

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat in Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat in Königsberg
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm, Geh.Reg.-Rat in Bamberg
Präsident Dr. A. Weber in Dresden

und

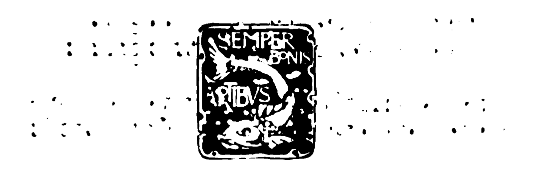
Prof. Dr. E. Gildemeister, Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

Erste Abteilung. 99. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 57 Abbildungen im Text und 4 Tafeln



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1926

Zentralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 99. Heft 1/3.

Ausgegeben am 6. Juli 1926.

Nachdruck verboten.

Ueber die Atmung der Bakterien durch Methylenblaureduktion.

Versuche an der Typhus-Coli-Gruppe.

[Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität Wien (stellv. Vorstand: Prof. Dr. J. C. Rothberger) und der Wiener Landes-Heil- und Pflegeanstalt am Steinhof (Direktor: Prof. Dr. J. Berze).]

Von

Ernst Löffler und **Rudolf Rigler**
Anstaltsarzt — Assistent des Institutes

Mit 11 Kurven im Text.

I.

Bei der Bestimmung der Bakterien, insbesondere der Typhus-Coli-Gruppe, ist die Prüfung ihres Verhaltens gegenüber verschiedenen Zuckerarten gebräuchlich. Dabei wird ihr Vermögen, aus Zuckern Säure zu bilden, durch Zusatz von Lackmus zu den verwendeten zuckerhaltigen Nährlösungen untersucht. Mit dieser Methode ist es möglich, im positiven Fall die Säurebildung festzustellen, der negative Ausfall berechtigt aber nicht, eine Spaltung des betreffenden Zuckers auszuschließen. Denn es ist wohl möglich, daß das betreffende Bakterium aus dem Zucker Abbaustufen bildet, die keine sauren Valenzen aufweisen und sich daher dem Nachweis durch Lackmus entziehen, oder daß eventuell gebildete saure Abbauprodukte im intermediären Stoffwechsel vorzeitig eine Absättigung erfahren. Will man sich demnach über das Angriffsvermögen von Bakterien, z. B. gegenüber Kohlehydraten Aufklärung verschaffen, so kann dies nur mit einer Methode geschehen, bei welcher wir auch die allerersten von Energieumsätzen begleiteten Vorgänge messen können. Nun wissen wir aber, daß die Sauerstoffaufnahme für viele Lebewesen die Hauptquelle energetischer Umsätze darstellt; jede Steigerung dieser O_2-Aufnahme ist also gleichbedeutend mit vermehrtem Stoffumsatz. Ein jeder, von den Bakterien angegriffene Stoff wird demnach die Atmungsgröße beeinflussen. Diese Ueberlegung gab uns Anlaß, den Bedarf der Bakterien an O_2 bei Zusatz von verschiedenen Kohlehydraten zu prüfen. Die Methode, die hierbei in Anwendung kam, wurde von folgenden Gesichtspunkten aus gewählt:

Einen einwandfreien Beweis für ein bestimmtes Angriffsvermögen würde natürlich die direkte Bestimmung des Sauerstoffmehrverbrauchs bei Gegenwart des zu untersuchenden Stoffes darstellen. Es sind Ver-

suche in dieser Richtung von Warburg und Wiesel[1]), Warburg und Meyerhof[2]) und Meyerhof[3]) angestellt worden unter Verwendung des Barcroft-Haldane-Manometers, indem sie Bakterien in eine mit Luft gesättigte Suspension von roten Rinderblutkörperchen eintrugen, daselbst bei einer bestimmten Temperatur eine gewisse Zeit verweilen ließen und dann die Abnahme des O_2-Gehaltes gegenüber einer mit Blausäure vergifteten Kontrolle bestimmten. Hierbei konnten schon Warburg und Wiesel feststellen, daß die Atmung in Salzlösungen erheblich kleiner war als in Lösungen, welche organische Substanzen enthielten. Bei der großen Zahl der notwendig gewesenen Versuche war es aber nicht möglich, diese auf eine direkte O_2-Messung zugeschnittene Methode in Anwendung zu bringen. Wir verwendeten daher eine indirekte, auf Farbstoffreduktion beruhende Messung der Atmung. Es ist eine Reihe derartiger Farbstoffreduktionsmethoden ausgearbeitet worden, so z. B. von Thunberg, Lipschitz-Gottschalk, Bieling, Heß. Allen Methoden ist gemein, daß die verwendeten Atmungsindikatoren, i. e. Farbstoffe durch Wasserstoffanlagerung mit oder ohne gleichzeitig stattfindende O_2-Abspaltung entfärbt werden oder einen Farbenumschlag erfahren. Bei der Wahl unter den Methoden war in Anbetracht der Infektiosität und um eine eventuelle Vermehrung der Keime während der Versuchszeit auszuschalten, erforderlich, eine Methode in Anwendung zu bringen, bei der die Ergebnisse in verhältnismäßig kurzer Zeit ablesbar sind und jede nicht unbedingt erforderliche Manipulation (Filtrieren, Kolorimeterbestimmungen) entfällt. Nun hat Thunberg[4]) die quantitativen Verhältnisse der Methylenblau (Mb.)-Reduktion durch tierisches Gewebe untersucht und ist zur Feststellung gekommen, daß die Reduktion von Mb. ein gut brauchbares Analogon zu den bei der Atmung oder allgemeiner gesagt, fermentativen Vorgängen sich abspielenden Prozessen darstellt. Ahlgren[5]), der die Methode in ihren Einzelheiten ausarbeitete, wies an einer großen Zahl von Beispielen ihre gute Brauchbarkeit nach. Thunberg wendet zur Erklärung der von ihm erhaltenen Resultate die Wielandsche Dehydrierungshypothese[6]) an und stellt sich das Parallelgehen von Atmung und Mb.-Reduktion in der Weise vor, daß beiden Vorgängen ein Dehydrierungsprozeß, der einerseits zur Bildung von Wasser, andererseits zur Bildung von Leuko-Mb. führt, zugrunde liegt. Daß das Methylenblau ein Körper ist, der unter gewissen Bedingungen der Reduktion zugänglich ist, war seit langem bekannt[7]). Eine Zeitlang bildete es eine Fragestellung, ob die durch Bakterien erfolgte Entfärbung des Mb. als vitaler Prozeß oder als unspezifische chemische Reaktion etwa mit gebildeten Stoffwechselprodukten zu werten sei.

In diesem Zusammenhang müssen gewisse Einwände bezüglich mangelnder Charakteristik für vitale Prozesse, die sich in der Mb.-Reduktion widerspiegeln sollen, besprochen werden. Wenn z. B. Muster und Woker[8]) eine Methode zur Unter-

1) Pflügers Arch. Bd. 144. 1912. S. 465.
2) Ibid. Bd. 148. 1912. S. 295.
3) Ibid. Bd. 169. 1917. S. 87.
4) Skand. Arch. f. Physiol. Bd. 35. 1917. S. 163.
5) Ibid. Suppl.-Bd. 47.
6) Ergebn. d. Physiol. Bd. 20. 1922. S. 477.
7) Siehe Smith, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. S. 181; Carapelle, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 47 (daselbst auch Literatur).
8) Pflügers Arch. Bd. 155. 1914. S. 92.

scheidung von Fruktose und Glukose im Harn auf Grund der Mb.-Reduktion ausarbeiteten, so ist hierzu zu sagen, daß diese Reaktion, in stark alkalischem Milieu vor sich gehend, ebensowenig mit einer biologischen Reaktion zu verwechseln ist, wie man etwa vom „Sauerstoffbedürfnis" eines rostenden Eisenstückes sprechen kann. Gleiches gilt von den Befunden einer Reduktion in Bouillon oder Serum, wo es sich wahrscheinlich um leicht oxydable Substanzen handelt, bei denen auch eine Oxydation durch den Luftsauerstoff möglich ist.

Für die Bakterienzelle haben Cathcart und Hahn[1]) diese Frage zugunsten des vitalen Charakters des Reduktionsprozesses entschieden. Sie konnten nachweisen, daß auch den von Stoffwechselprodukten befreiten Bakterien, aus welchen, ähnlich wie nach dem Verfahren von Buchner-Rapp[2]) Azetondauerpräparate hergestellt worden waren, ein, wenn auch stark abgeschwächtes, so doch gut meßbares Reduktionsvermögen für Mb. zukam[3]). Warburg[4]) stellte fest, daß derartige Präparate einen deutlichen O_2-Verbrauch und annähernd gleichgroße CO_2-Produktion, die Charakteristika der Atmung, aufweisen.

Was die kinetische Seite der Mb.-Reduktion anlangt, so zeigte Smith[5]), daß sie bei Bakterien mit der Zahl der Keime parallel geht, Cathcart und Hahn bringen den gleichen Befund und schließlich hat Widmark[6]) sowie Ahlgren[7]) die Abhängigkeit dieses Reduktionsprozesses innerhalb gewisser Grenzen vom Enzym-Zeitgesetz gefunden. Ahlgren wies ferner darauf hin, daß bei variierenden Mb.-Mengen die Entfärbezeiten durchaus nicht in gleicher Weise ansteigen, sondern daß das relative Reduktionsvermögen — die in der Zeiteinheit umgesetzte Mb.-Menge — bei verschiedenen Mb.-Mengen verschieden ist und unter anderem ein Optimum aufweist.

In diesem Zusammenhang ist der Einfluß zu erwähnen, den die Mb.-Konzentration auf das untersuchte Substrat selbst ausübt; Meyerhof berichtet, daß eine Mb.-Konzentration von 0,005 Proz. bereits einen hemmenden Einfluß auf die Atmung lebender Staphylokokken ausübt, und im Einklang mit diesen Befunden fanden wir, daß eine Steigerung der Konzentration über den genannten Betrag in vielen Versuchen von einer relativen Verzögerung der Reduktion gefolgt war. Anderseits konnte Meyerhof zeigen, daß mit Azeton behandelte, im Vakuum erhitzte Staphylokokken, welche in ihrer Atmung schwer geschädigt waren, bei Gegenwart von Mb. eine deutliche Steigerung des O_2-Verbrauches und der CO_2-Produktion aufwiesen. Es ist hiermit zur Genüge dargetan, daß das Mb. nicht als indifferenter Stoff in dem untersuchten System zur Geltung kommt. Es sind daher zur Kontrolle derartiger auf Mb.-Reduktion beruhender Untersuchungen direkte Bestimmungen des O_2-Verbrauches erforderlich. Nun aber hat Meyerhof in der gleichen oben angeführten Arbeit durch direkte Atmungsmessung für Staphylokokken eine Steigerung des O_2-Bedarfes in NaCl-Traubenzuckerlösung um das 3—4fache gegenüber der Atmung in der leeren Salzlösung festgestellt, was mit dem von uns mit der Mb.-Methode erhobenen Befunden in der Ty.-Coli-Gruppe sehr gut übereinstimmt.

1) Arch. f. Hyg. Bd. 44. 1902. S. 295.
2) Buchner, E., Buchner, H., u. Hahn, H., Die Zymasegärung. S. 265.
3) Allerdings führt Hahn die Reduktion auf das Vorhandensein einer eigenen Mb.-Reduktase zurück und spricht in diesem Zusammenhang nicht von Atmung.
4) Warburg, O., u. Meyerhof, O., Ueber Atmung in abgetöteten Zellen und Zellfragmenten. (Pflügers Arch. Bd. 148. 1912. S. 297.)
5) Smith, l. c.
6) Skand. Arch. f. Physiol. Bd. 41. 1921. S. 200.
7) Ahlgren, l. c.

Wir werden daher nicht fehlgehen, wenn wir unseren, mit der Mb.-Reduktionsmethode erhobenen Befunden genügende Beweiskraft zumessen.

II.

Als wir unsere Versuche anfänglich in der Weise durchführten, daß wir Bakteriensuspensionen (in destilliertem Wasser, physiologischer Kochsalzlösung oder Dinatriumphosphatlösung) zu gepufferten Lösungen verschiedener Zucker zusetzten, zeigte es sich, daß bei einer Reihe von Zuckern in kürzester Zeit eine komplette Entfärbung der zugesetzten Mb-Menge auftrat. Im Gegensatz zu diesem Befund hatten Cathcart und Hahn kein beschleunigtes Reduktionsvermögen für Staphylokokken und Coli bei Zusatz von Rohrzucker, Traubenzucker und Glyzerin feststellen können. Der Grund für diesen abweichenden Befund liegt wohl darin, daß diese Autoren zur Herstellung ihrer Suspension Bouillon verwendet haben, also ein Medium, welches bezüglich angreifbarer Substrate ein Optimum darstellt, so daß jeder weitere Zusatz an angreifbarer Substanz keine Steigerung der Verbrennungsprozesse mehr bewirken konnte. Dies geht auch aus der Arbeit von Ahlgren hervor, nach der die Reduktionsfähigkeit bei steigendem Zusatz von angreifbarer Substanz bis zu einem gewissen Punkte ansteigt — anfangs schneller, später langsamer — während dann bei weiteren Zusätzen eine Abkürzung der Reduktionszeit ausbleibt. (Auch Meyerhof hat in seinen Atmungsversuchen Bouillon als optimales Atmungsmilieu gefunden, weniger gut NaCl-Traubenzuckerlösung; am geringsten war die Atmung in reiner Salzlösung.) Daß es sich hierbei nicht um eine schädigende Wirkung der Salzlösung an sich handelt, geht daraus hervor, daß ein Zusatz einer ganz geringen Menge von Bouillon zur Salzlösung die Atmung der Bakterien wieder auf die in Bouillon erhaltenen Werte zurückführte.)

Bemerkenswerte Befunde, die wir so erhoben haben, sind die der genauen Bestimmung des Spaltungsvermögens durch B. faecalis alcaligenes, weiter die deutliche Fähigkeit der Spaltung für Maltose und Saccharose durch B. dysenteriae Shiga-Kruse, das Verhalten verschiedener Stämme gegen Glyzerin. Außerdem konnten Unterschiede in der Spaltfähigkeit festgestellt werden, auf die bisher wenig Gewicht gelegt worden war.

III.

Die ersten Versuche waren ohne Vakuum durchgeführt worden. Von einer Bakteriensuspension von bestimmter Konzentration wurde je $^1/_2$ ccm in kleine Reagenzröhrchen von 7 mm lichter Weite übertragen, in welchen $^1/_2$ ccm einer Lösung des verwendeten Zuckers, von Mb. und eines Gemisches von primärem und sekundärem Phosphat vorhanden war. Auf das Volumen von 1 ccm war der Zuckergehalt $^1/_{50}$ molar, der verwendete Phosphatpuffer $^1/_{10}$ molar, die verwendete Mb.-Menge betrug 0,002 Proz. Die Lösung war auf p_H 7,2 gebracht worden. Während der Dauer der Einfüllung der Bakterien trat keine Entfärbung auf. Die so beschickten Röhrchen wurden bei Brutschranktemperatur auf ihre Entfärbung beobachtet, gegenüber einer Kontrolle, die in gleicher Weise hergestellt war, jedoch ohne Zusatz irgendeiner organischen Substanz. Es ist klar, daß hierbei nur erhebliche Unter-

schiede in der Entfärbezeit verwendbar sind, da die Rückoxydation des Leuko-Mbs. durch den zutretenden Luftsauerstoff eine große Fehlerquelle beinhaltet. Trotz dieser ungenauen Verhältnisse haben sich deutliche Unterschiede bei den einzelnen Zuckerarten ergeben, wofür wir aus der Reihe derartig angestellter Versuche ein Beispiel geben.

Tabelle I. B. coli.

Ablesezeiten	Kontrolle	Arabinose	Glukose	Lävulose	Galaktose	Mannose	Saccharose	Laktose	Maltose	Amylum	Dextrin	Inulin	Glyzerin	Erythrit	Mannit	Dulzit	Bemerkung
7^{23}		In den Brutschrank eingesetzt															Um 8^{25} h wird der Versuch abgebrochen, da die Kontrolle sich bereits zu entfärben beginnt. Außerdem stellt sich in den vollkommen entfärbten Röhrchen in den oberen Schichten infolge Rückoxydation wieder Bläuung ein. Diese wird durch die Senkung der Bakterien ermöglicht, was zur Folge hat, daß in den obersten Schichten keine Reduktionsprozesse mehr stattfinden.
7^{38}	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	1	θ	θ	θ	θ	
7^{40}	θ	θ	1	1	1	1	1	θ	1	θ	θ	1	θ	θ	θ	θ	
7^{42}	θ	θ	2	2	2	2	2	θ	2	θ	2	2	θ	θ	1	θ	
7^{45}	θ	θ	3	3	3	3	3	θ	3	θ	3	3	θ	θ	2	θ	
7^{47}	θ	θ	3	3	3	3	3	θ	3	1	3	3	θ	θ	3	1	
7^{50}	θ	θ	3	3	3	3	3	θ	3	3	3	3	2	θ	3	2	
7^{53}	θ	θ	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	θ	3	2	
7^{56}	θ	1	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	θ	3	2	
8^{02}	θ	2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	θ	3	2-3	
8^{20}	θ	2-3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2-3	2	3	2	
8^{25}	1	Keine weiteren Ablesungen															

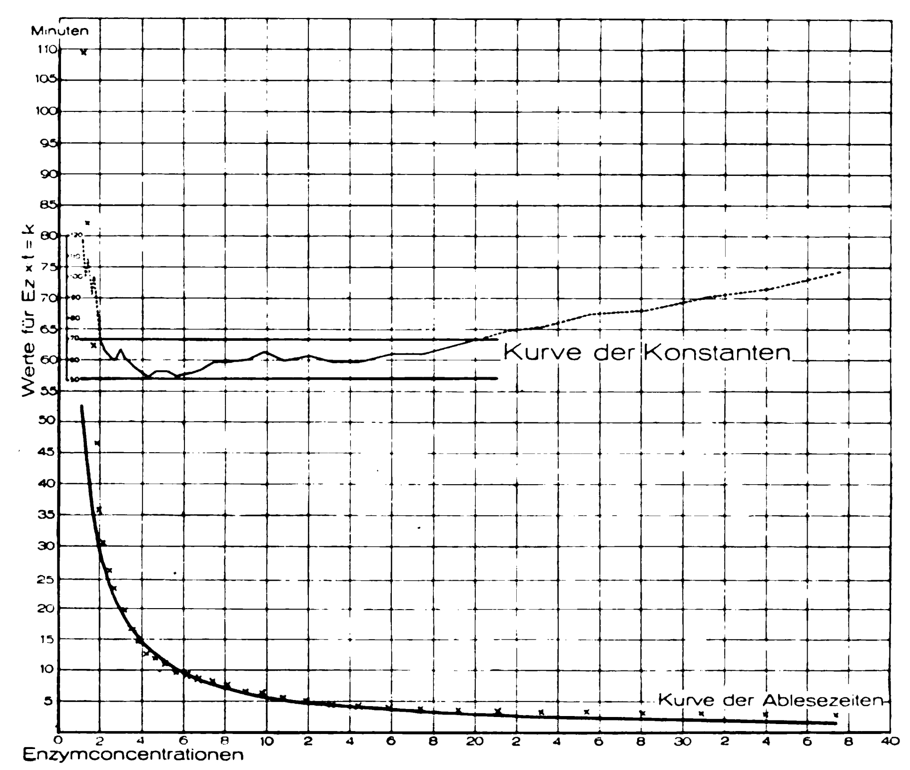
1 = beginnende Entfärbung.
2 = deutliche Entfärbung.
3 = komplette Entfärbung.

Ergebnis: Am frühesten beginnen sich die Röhrchen zu entfärben, welche mit Glukose, Lävulose, Galaktose, Mannose, Saccharose, Maltose, Inulin beschickt waren. Es folgen dann unter zunehmender Entfärbung der bereits genannten: Dextrin, Mannit, Stärke, Dulzit und Glyzerin. Am spätesten entbläuen Arabinose und Laktose. Erythrit entfärbt sich zu einer Zeit, wo die Resultate anfangen, unverwendbar zu werden.

Manchmal aber zeigt es sich, daß die Atmungsintensität einzelner Bakterien durch Zuckerzusatz nur in so geringem Maße gesteigert wurde oder daß die Eigenatmung eine so intensive war, daß Entfärbung in den Kontrollröhrchen auftrat, ehe diese noch in den zuckerhaltigen Röhrchen vollkommen war. Dies führte uns dann zur Verwendung der Thunbergschen Vakuumröhrchen, wodurch der durch die Rückoxydation des Mb. bedingte Fehler wegfiel. Die Beschickung der Röhrchen war die gleiche wie früher, nur die Mb.-Menge war in einem Großteil der Versuche auf 0,005 Proz. erhöht worden. Dabei zeigt es sich, daß die Eigenatmung, oder nach Thunberg die Spontanreduktion, d. i. die Atmung ohne Zusatz von organischem Substrat, nicht bei allen Stämmen in gleicher Weise selbst durch gut angreifbares Material stimuliert wurde. Es erwies sich als zweckmäßig, die Reduktionsbestimmungen mit verschiedenen Bakterienmengen, die der Größenordnung nach in geometrischer Progression abnahmen, durchzuführen. Eine solche Versuchsanordnung erlaubt leicht ein Urteil über die Richtigkeit der erhaltenen Werte, da sich sofort feststellen läßt, ob sich ein abgelesener Wert in die Kurve der übrigen einreiht. Hierfür möge ein Beispiel angeführt sein, das zugleich die Gültigkeit des Enzym-Zeitgesetzes für unsere Untersuchungen bestätigt. Es fallen nämlich die nach der Formel

Ez×t = k erhaltenen Konstanten für ein gewisses Gebiet (4.—30. Minute) mit einer geringen Streuung um einen Mittelwert.

Für die höheren Verdünnungen gilt aber das Enzym-Zeitgesetz in dieser mathematischen Fassung nicht. In den höheren Verdünnungen nimmt die Konstante bei weiterem Fortschreiten progredient zu (Konstantenwanderung, siehe Kurve der Konstanten). Dies zeigt, daß das Ferment in stärkerem Grade abgenommen hat, als es der mathematisch berechneten Verdünnung entspräche. Es scheint bei der im Laufe der Verdünnungen immer kleiner werdenden Zahl der Keime bei gleichzeitig unverändert bleibender Mb.-Menge eine Aenderung der relativen Wir-



Kurve 1. B. dysenteriae Flexner. Dichte Suspension, hergestellt mit phys. Kochsalzlösung, davon fortlaufende Verdünnungen im Verhältnis 10:1 phys. Kochsalzlösung; von jeder Verdünnung 0,5 ccm, ferner 0,2 ccm m/10 Glukose, 0,2 ccm Phosphatpuffer, 0,1 ccm Mb. 1:2000; pH. 7,2. Die Entfärbedauer wird vom Moment des Einsetzens in das Wasserbad (37°) an gerechnet. Die Kreuze stellen die im Versuch abgelesenen Entfärbezeiten dar. Die ausgezogene Hyperbel stellt eine Vergleichskurve dar; es liegt ihr als Konstante der Mittelwert jener Produkte von Ez × t zugrunde, die nur ein geringfügiges, durch unvermeidliche Versuchsfehler bedingtes Schwanken um einen bestimmten Wert erkennen lassen und deren graphische Darstellung in der Kurve der Konstanten durch Umrahmung mittels paralleler Linien gekennzeichnet ist. Aus der Abbildung ist ersichtlich, daß innerhalb der 4.—30. Minute Entfärbedauer die theoretischen mit den versuchsmäßig erhaltenen Werten gut übereinstimmen.

kung des verwendeten Mbs. einzutreten. Unter relativer Wirkung einer bestimmten Mb.-Menge wird hierbei die Art und Weise verstanden, in welcher sich ein kleines Plus an Mb. bei einer bestimmten Keimzahl

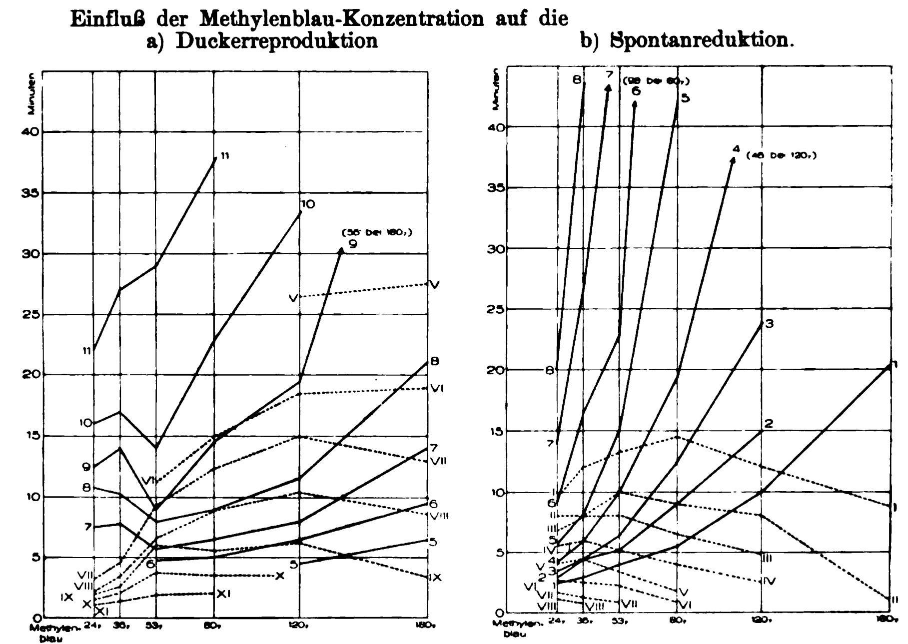
und bei bestimmten Donatorverhältnissen auf die Intensität des Reduktionsprozesses auswirkt. Aus weiter unten mitgeteilten Versuchen ist ersichtlich, daß die relative Mb.-Wirkung von dem Mengenverhältnis Mb.: Bakterien abhängt. Allem Anschein nach erfolgt die strikte Einhaltung des Enzym-Zeitgesetzes nur so lange, als durch die geänderte Bakterienkonzentration die relative Wirkung einer gegebenen Mb.-Menge nicht oder nur in geringem Maße abgeändert wird.

Man könnte nun versuchen, die relative Mb.-Wirkung, die wahrscheinlich von physikalisch-chemischen Vorgängen abhängt, dadurch konstant zu halten, daß man trotz variierender Enzym-Konzentrationen das physikalisch-chemische Gesamtmilieu möglichst unverändert hält. Es wurde dies in einem Versuch von uns in der Weise angestrebt, daß zur Herstellung der Verdünnungsreihe an Stelle von Salzlösung eine durch Erhitzen abgetötete Bakteriensuspension von gleicher Dichte wie die zu verdünnende Suspension verwendet wurde. Hierbei glauben wir für eine größere Zahl von Verdünnungen als sonst konstante Werte für die Formel $Ez \times t$ gefunden zu haben. Allerdings läßt dieser Versuch auch eine andere Deutung zu: Meyerhof hat in seinen Atmungsversuchen mit abgetöteter Azetonhefe gefunden, daß nicht nur die absolute Menge der Azetonhefe, sondern auch die Konzentration, in der sie sich in der Suspension befindet, für den endgültigen O_2-Verbrauch maßgebend ist. Daraus schließt er auf das Vorhandensein eines aus der Hefe in die Lösung übergegangenen Stoffes, dem er Kofermentcharakter zumißt und den er Atmungskörper nennt. Dieser, nach Meyerhof thermostabile Körper könnte auch in der erhitzten Bakteriensuspension enthalten sein und die durch fortlaufendes Verdünnen mit Salzlösung sonst bewirkte Konzentrationsabnahme eines derartigen Kofermentes ausgleichen.

Der Einfluß, den das Stehenlassen auf die Bakteriensuspension ausübt, erweist sich als ziemlich beträchtlich. Bereits nach 2 Std. können deutliche Abnahmen des Reduktionsvermögens zunächst bei der Spontanreduktion festgestellt werden. Die Intensität des Atmungsprozesses hat eine deutliche Einbuße erfahren, auch wenn die Bakterienaufschwemmung osmotisch unter den besten Bedingungen hergestellt worden ist. Daß diese Abnahme nicht auf einer schädigenden Wirkung der Salzlösung beruht, haben wir schon oben gezeigt. Aehnliches fanden auch Cathcart und Hahn. Sie meinen, daß diese Abnahme auf Einwirkung von Luftsauerstoff auf feucht gehaltene Bakterien zurückzuführen sei. Es ist bemerkenswert, daß hierbei die Eigenatmung der Bakterien scheinbar stärker abnimmt als die Atmung in Gegenwart eines gut angreifbaren Zuckers. Bei hinreichend langdauernden Versuchen bleibt aber auch das Zuckerspaltungsvermögen nicht ungeändert. Betrachtet man diese Abnahme ihrer kinetischen Seite nach, so zeigt sich, daß sie nicht um sehr viel kleiner ist, als die Abnahme der Eigenatmung. Die Reaktionskonstante der Eigenatmung stieg bei einem Versuch innerhalb von 6 Std. auf das 1,9fache, die der Zuckerspaltung auf das 1,3fache.

Im Anschluß hieran bringen wir die Resultate von Versuchen über den Einfluß variierender Mb.-Mengen auf Bakteriensuspensionen von verschiedener Dichte. Wie erwähnt, ist eine Mb.-Konzentration von 0,005 Proz. für lebende Staphylokokken als bereits atemschädigend gefunden worden. Die Angabe, daß die Konzentration für eine bestimmte Mb.-Wirkung maßgebend sei, bedarf aber einer Ergänzung, da dieser Befund nur für eine bestimmte Keimzahl in der betreffenden Mb.-Lösung Geltung hat. Denn wie wir zeigen können, bewirkt jede stärkere Variation der Zahl der Keime eine Aenderung der relativen Wirkung des Mb. (Kurve 2). Dementsprechend sehen wir bei gleichbleibender Mb.-Konzentration das eine Mal, wo die Konzentration der Keime eine hohe

ist, optimale Reduktionsverhältnisse, d. h. die in der Zeiteinheit stattfindenden Mb.-Umsätze sind größer als bei jeder anderen Mb.-Konzentration (s. Kurve der Spontanreduktion 1 u. I., 80 γ Mb.), das andere Mal, wo weniger Keime vorhanden sind (Kurve der Spontanreduktion 6 u. VI.), ist die gleiche Mb.-Konzentration (80 γ) die ungünstigste reduktion 6VI.), ist die gleiche Mb.-Konzentration die ungünstigste unter allen untersuchten. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß bei jeder stärkeren Variation der Bakterienkonzentration auch die Gesamtheit der aktiven Grenzflächen große Aenderungen erfährt und mithin auch das von der Flächeneinheit adsorbierte Farbstoffquantum. Letzterer Betrag ist aber entscheidend für die Art der Wirkung des Mb. Aber selbst wenn Bakterien und Mb.-Konzentration konstant gehalten werden, sehen wir, daß die relative Wirkung des Mbs., d. h. die Art

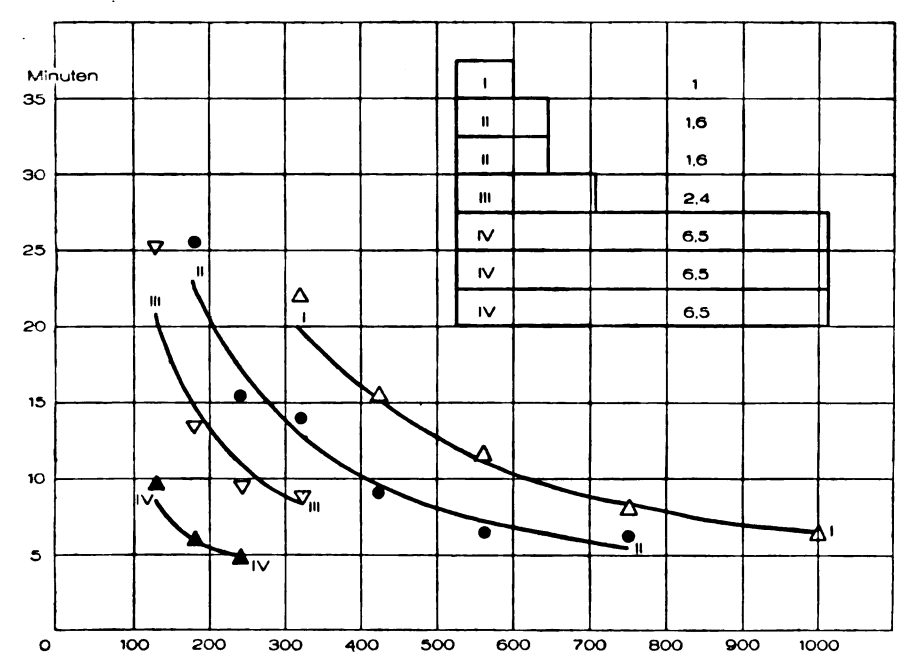


Kurve 2. B. coli. Die fortlaufenden Verdünnungen wurden im Verhältnis 3 Bakterien zu 1 Salzlösung angesetzt. Die einzelnen mit arabischen Ziffern bezeichneten Kurven entsprechen je einer Verdünnung, wobei 1 die dichteste Aufschwemmung bedeutet, 2 die nächstdichte usw. Diese Kurven geben die bei den einzelnen Methylenblaumengen (Abszisse) abgelesenen Entfärbezeiten (Ordinate) wider. Die mit römischen Ziffern bezeichneten (punktierten) Kurven sind der Ausdruck der entsprechenden relativen Reduktionsintensitäten (= der in der Zeiteinheit entfärbten Methylenblaumengen).

und Weise, in welcher sich ein kleiner Zuwachs von Mb. auswirkt — ob in Beförderung oder Hemmung des Reduktionsablaufes — von der An- oder Abwesenheit einer spaltbaren Substanz abhängt. So sehen wir bei den Kurven VI der Spontan- und Zuckerreduktion, daß unter sonst gleichen Verhältnissen bei der Spontanreduktion eine Steigerung von 53 auf 80 γ hemmend wirkt, während bei der Zuckerreduktion die gleiche Vermehrung der Mb.-Menge eine Vergrößerung des in der Zeiteinheit umgesetzten Quantums mit sich bringt. Am offensichtlichsten tritt die stimulierende Wirkung des Mb. in den Kurven 7—10 der

Zuckerreduktion zutage, wobei bei 53 γ Mb. gegenüber den untersuchten niedrigeren Mb.-Konzentrationen nicht nur der Betrag der in der Zeiteinheit umgesetzten Farbstoffmenge größer ist, sondern der Reduktionsprozeß derartig beschleunigt wird, daß er sich, auch absolut gemessen, in kürzerer Zeit vollzieht als die Entfärbung der kleineren Mb.-Mengen[1]).

Aus diesen Darlegungen geht hervor, daß es richtiger wäre, für jede Bakterienkonzentration und jeden zugesetzten Donator jene Mb.-Menge zu verwenden, welche die gleiche relative Wirkung hat, welche z. B. die optimale ist. Da dies aus praktischen Gründen nicht durchführbar ist, haben wir uns entschlossen, durchwegs eine Mb.-Konzentration von 50 zu wählen; diese erweist sich für die Gesamtheit der Versuche noch als die beste. Außerdem wurden die bei den verschiedenen



Kurve 3. B. coli 3:1,45 gr. Mb. Diagramm der einzelnen Reaktionskonstanten. I Kontrolle; II Laktose, Arabinose; III Glyzerin; IV Glukose, Amylum, Mannit.

Verdünnungen erhaltenen Reduktionszeiten nur von der 4.—30. Minute verwertet, innerhalb welchen Gebietes die gut übereinstimmenden Konstanten Anwendung fanden.

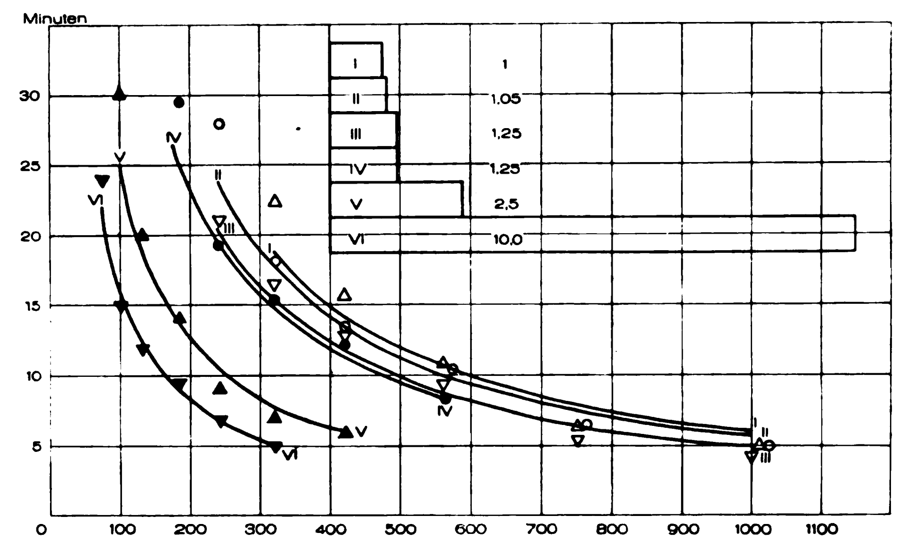
IV.

B. coli. 18stünd. Agarkultur, sehr dichte Aufschwemmung, hergestellt in einer Salzlösung, bestehend aus 5 g NaCl und 2 g K_2HPO_4 auf 1000 H_2O. Davon Verdünnungen 3:1. Die dichteste Aufschwemmung wurde mit der Enzymzahl 1000 belegt, dementsprechend die

1) Nach Abschluß unserer Arbeit erschien im Archiv f. Hygiene. Bd. 96. 1925. S. 195, eine Abhandlung von O. Kirchner: Bioskopische Reduktionsmethoden, II, deren meritorischer Inhalt sich in diesem Punkt mit unseren Befunden deckt.

folgenden Verdünnungen mit den Zahlen 750, 560, 420 usw. (Von einer Zählung der Keime haben wir Abstand genommen, da eine genaue Zählung der lebenden Keime nicht möglich ist und wir auch nicht das absolute Reduktionsvermögen, d. h. das auf das Keimindividuum bezogene Reduktionsvermögen bestimmen wollten.) Jedes Röhrchen wurde beschickt mit 0,2 ccm $^1/_{10}$ molar Zuckerlösung[1]), 0,2 ccm Phosphatpuffer, 0,1 ccm Mb.-Lösung 1:2000 (Mb. medicinale Merck). Hierzu wurde von jeder Bakterienverdünnung je $^1/_2$ ccm Aufschwemmung zugesetzt. Das pH betrug 7,2. Die Röhrchen wurden durch 2 Minuten mit Hilfe einer Rapidpumpe evakuiert (das Vakuum betrug, die Dampfspannung des Wassers miteingerechnet, 13 mm Hg), dann in ein Wasserbad von 37^0 eingesetzt und die Entfärbezeit vom Augenblick des Einsetzens gerechnet. [Bezüglich der genaueren technischen Einzelheiten siehe die erschöpfende Zusammenfassung von Ahlgren[2]).]

Berechnet man unter den im vorigen Kapitel auseinandergesetzten Kautelen die Reduktionskonstanten aus den aus den Zuckerkurven ab-



Kurve 4. B. typhi 3:1,45 gr. Mb. I Kontrolle; II Laktose; III Arabinose; IV Glyzerin; V Amylum; VI Glukose.

gelesenen Werten und bezieht ihre reziproken Werte auf die Reduktionskonstante der Spontanreduktion als Einheit, so sehen wir, daß der Entfärbeprozeß bei Gegenwart von Laktose und Arabinose 1,6mal rascher vor sich geht als die Spontanreduktion. Im gleichen Sinne sind die Werte von 2,4 für Glyzerin, bzw. 6,5 für Glukose[3]),

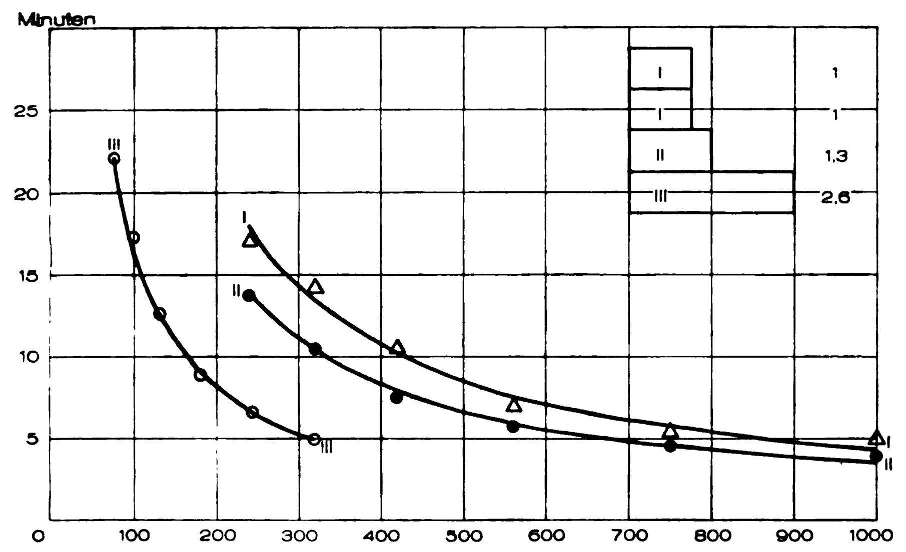
1) Die Herstellung der Zuckerlösungen (Präparate Kahlbaum) wurde unter den Kautelen ausgeführt, wie sie Heim in seinem Lehrbuch der Bakteriologie, 6. u. 7. Aufl. 1922. S. 97 angibt.

2) Ahlgren, l. c.

3) In einer vor kurzem erschienenen Arbeit (O. Kirchner, l. c.) wird behauptet, daß B. coli in einer Traubenzuckerlösung Mb. schlechter reduziere als in phys. Kochsalzlösung. Die vom Autor verwendete Versuchsanordnung, bei welcher auf die Konstanthaltung der cH nicht genügend Wert gelegt worden war, berechtigt aber unseres Erachtens nicht zu solchen Schlußfolgerungen. Ohlsson (Skand. Arch. f. Physiol. Bd. 41. 1921. S. 77), ferner Essen-Möller (Skand. Arch. f.

Amylum und Mannit zu verstehen. Bemerkenswert ist, daß der Milchzucker im Vergleich zur Glukose etc. doch nur ein schwaches Aktivierungsvermögen besitzt. Da aber nur jener Körper als guter Aktivator wirken kann, der selbst gut angegriffen wird — ausgenommen selbstverständlich die eigentlichen Katalysatoren — so geht daraus hervor, daß der Milchzucker im Vergleich zum Traubenzucker selbst vom Bacterium coli nur schwach angegriffen wird.

Hier wie bei den folgenden Versuchen immer die gleiche Technik. Ergebnis: Bei der in gleicher Weise angestellten Berechnung ergibt sich, daß Laktose so gut wie gar nicht angegriffen wird, wie aus dem Milchzuckerindex 1,05 hervorgeht; bemerkenswert ist das Verhältnis der Spontanreduktion zur Zuckerreduktion, das wir bei verschiedenen Stämmen meistens im Verhältnis 1 : 10 fanden.



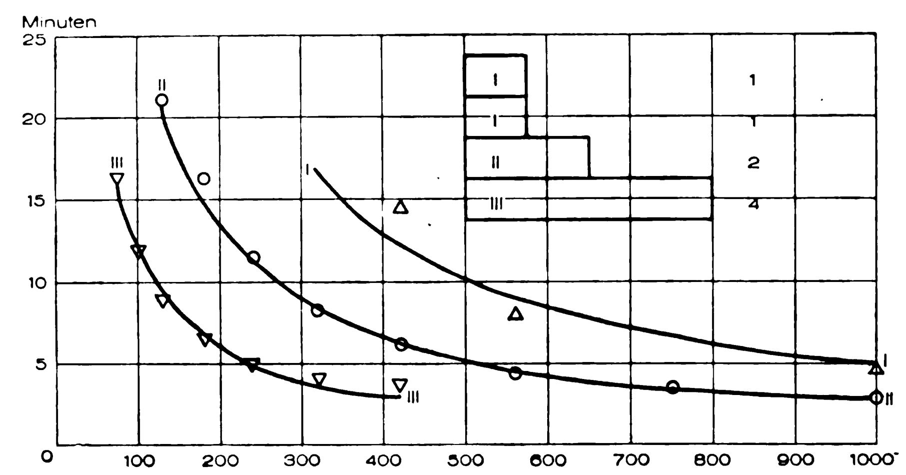
Kurve 5. B. paratyphi A 3 : 1,45 gr. Mb. I Kontrolle, Laktose; II Glyzerin; III Glukose.

Verhältnismäßig schwache Steigerung der Reduktion durch Glukose. (S. Kurve 6, S. 12.)

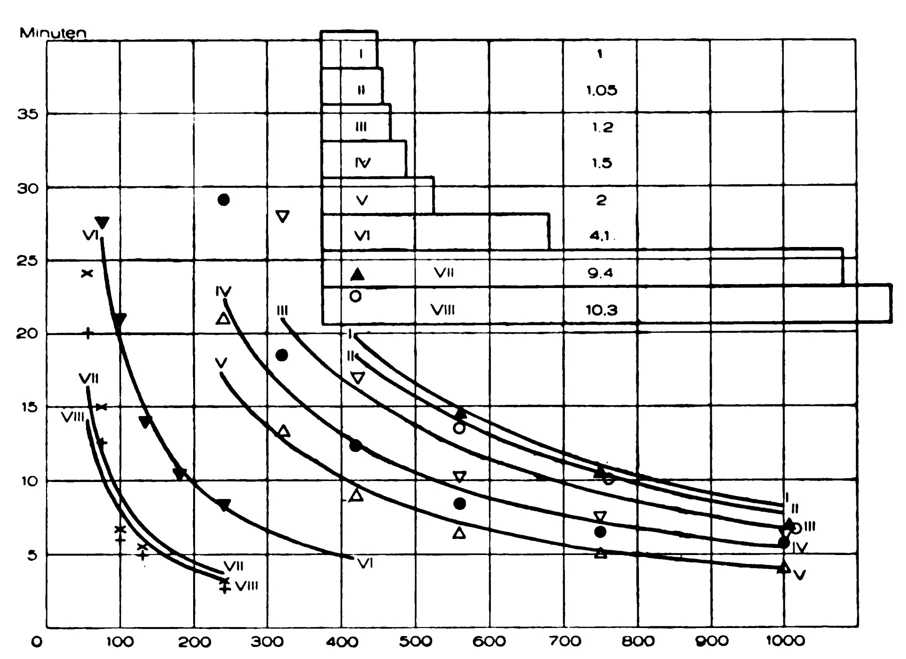
Besseres Angriffsvermögen für Glukose und Glyzerin. (Siehe Kurve 7, S. 12.)

Sehr gutes Angriffsvermögen für Glukose und Maltose; dieses Verhalten der Maltose gegenüber widerspricht dem Verhalten des Stammes in der bunten Reihe nach Barsiekow, nach der er mehrmals geprüft wurde. Mannit wird nur schwach angegriffen (Index 1,5). (Siehe Kurve 8 und 9, S. 13.)

Physiol. Bd. 47. 1926. S. 164) haben gezeigt, daß der Reduktionsprozeß gegen Aenderungen der CH sehr empfindlich ist. Es wird vom Autor zwar mit der Möglichkeit einer Verschlechterung des Reduktionsprozesses bei Zuckergegenwart infolge Säurebildung und damit geänderter pH gerechnet, ein darauf bezüglicher Versuch aber, durch Zusatz von alkalischem Phosphat der zunehmenden Säuerung entgegenzuwirken, fällt so ungenügend aus, daß innerhalb der 35 Min. Versuchsdauer das pH von 7,7 auf 7,0 absinkt (Tab. IX auf S. 209 der Arbeit). Nur so können wir uns den völlig abweichenden Befund erklären. Vgl. auch Quastel und Whetham (Bioch. Jahrb. Bd. 19. 1925. S. 647), die ebenfalls eine enorme Beschleunigung des Reduktionsprozesses durch Glukose fanden.



Kurve 6. B. paratyphi B 3:1,45 gr. Mb. I Kontrolle, Laktose; II Glyzerin; III Glukose.



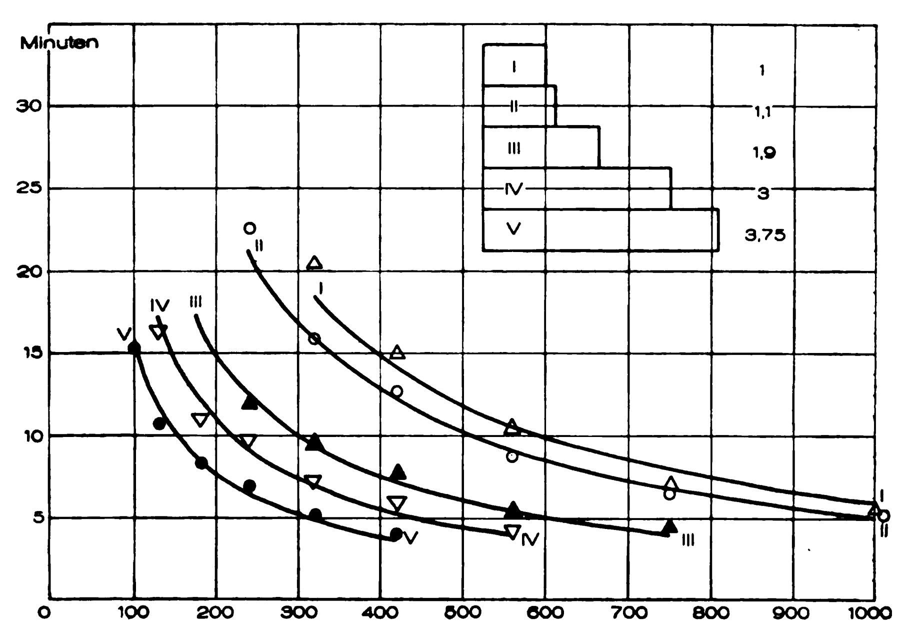
Kurve 7. B. dysenteriae Shiga-Kruse 3:1,45 gr. Mb. I Kontrolle; II Laktose; III Arabinose; IV Mannit; V Glyzerin; VI Amylum; VII Maltose; VIII Glukose.

Die atoxischen Dysenteriestämme zeigen ein gutes Angriffsvermögen für Mannit. (S. Kurve 10, S. 14.)

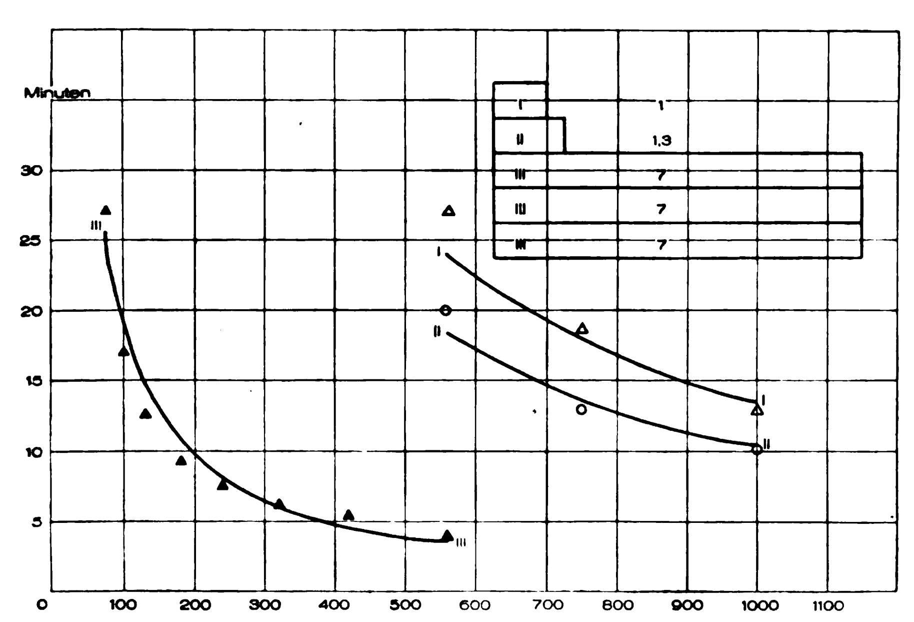
Bemerkenswert durch sein besonderes Glyzerinspaltungsvermögen. (S. Kurve 11, S. 14.)

In Uebereinstimmung mit den Angaben von J. H. Quastel und Wooldridge[1]) fand sich ein schwaches Angriffsvermögen für Mal-

1) Bioch. Journ. Bd. 19. 1925. Nr. 4. S. 652.

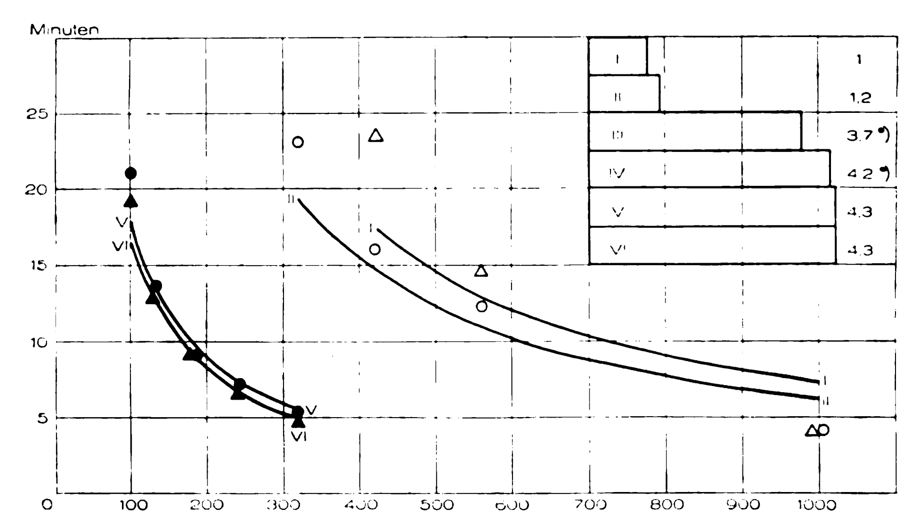


Kurve 8. B. dysenteriae Flexner 3:1,45 gr. Mb. I Kontrolle; II Laktose; III Glyzerin; IV Mannit; V Glukose.



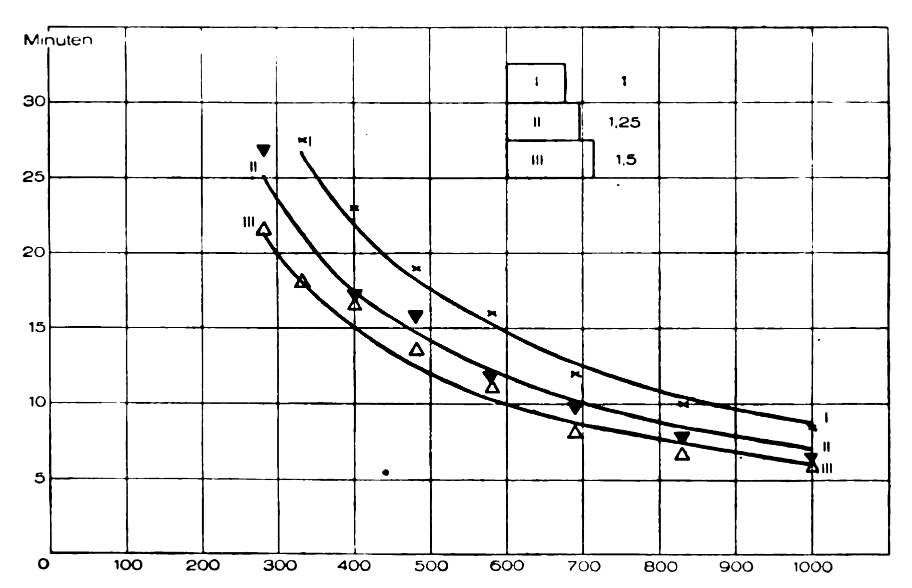
Kurve 9. B. dysenteriae Strong. acid. 3:1,45 gr. Mb. I Kontrolle; II Glyzerin; III Glukose, Saccharose, Maltose.

tose. Wir ergänzen seinen Befund dahin, daß Glyzerin ebenso angegriffen wird.



Kurve 10. B. proteus 3:1,45 gr. Mb. I Kontrolle; II Laktose; III Mannit; IV Amylum; V Glukose; VI Glyzerin.

*) Die absoluten Werte für Mannit und Amylum wurden in einem anderen Versuche gewonnen, weshalb hier nur die relativen Indexzahlen angeführt werden.



Kurve 11. B. faecalis alcaligenes 3:1,45 Mb. I Kontrolle, Glukose, Amylum, Mannit; II Xylose; III Maltose, Glyzerin.

Zum Schluß wollen wir eine Zusammenstellung der erhaltenen Indexzahlen geben. (Siehe S. 15.)

Sollte sich eine Konstanz der hier wiedergegebenen Indexwerte bei einer Ueberprüfung einer großen Zahl von typischen Stämmen bestätigen, wie wir es z. B. bei einigen untersuchten Coli- und Typhusstämmen tatsächlich gefunden haben, so könnten diese Werte als Art-

Tabelle II.

	B. coli	B. typhi	B. paraty A	B. paraty B	Shiga-Kruse	Flexner	Strong	B. proteus	B. faec. alcalig.
Kontrolle	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Arabinose	1,6	1,25	.	.	1,2	.	.	.	.
Xylose	.	.	.	.	.	.	.	.	1,25
Glukose	6,5	10,0	2,6	4	10,3	3,75	7,0	4,3	1
Laktose	1,6	1,05	1	1	1,05	1,1	.	1,2	.
Maltose	.	.	.	.	9,4	.	7,0	.	1,5
Saccharose	.	.	.	.	.	.	7,0	.	.
Amylum	6,5	2,5	.	.	4,1	.	.	4,2	1
Glyzerin	2,4	1,25	1,3	2	2	1,9	1,3	4,3	1,5
Mannit	6,5	.	.	.	1,5	3	.	3,7	1

merkmale verwendet werden. Das gleiche Bestreben lassen Untersuchungen von Wichern[1]) erkennen, wenn auch die von ihm angewendete Technik nicht zur Lösung der Frage führen konnte. Auch Zoltan[2]) erwägt die Brauchbarkeit der Mb.-Reduktion in differentialdiagnostischer Hinsicht.

Die in der Tabelle angeführten Zahlen entsprechen nur den in den Kurven dargestellten Versuchen. Tatsächlich haben wir aber für alle Stämme, mit Ausnahme des B. faecialis alcaligenes, folgende Zucker und Alkohole geprüft: Xylose, Arabinose, Rhamnose, Glukose, Fruktose, Galaktose, Mannose, Saccharose, Maltose, Laktose, Amylum, Inulin, Dextrin, Glykogen, Glyzerin, Erythrit, Dulcit, Mannit. Die Prüfung geschah aber nur mit einer einzigen Verdünnung, was nach dem Vorausgeschickten nicht vollkommen einwandfrei ist, da bei schwächerer Reduktion die längeren Entfärbezeiten mit verschiedenen Fehlerquellen behaftet sind. Doch konnten wir sehen, daß so wie Glukose alle übrigen Hexosen in gleicher Weise die Entfärbung beschleunigten. Ferner zeigte sich, daß das gleiche Verhalten wie die Maltose auch die Saccharose aufwies und wie das Amylum auch die übrigen Stärken. Glyzerin, auf das wir unser besonderes Augenmerk gelenkt haben, wurde durchweg kurvenmäßig geprüft. Als Beispiel für einen in dieser Weise angestellten Versuch seien B. coli und B. dysenteriae Shiga-Kruse angeführt. Auch bei diesem Coli-Stamm sehen wir ebenso wie bei dem in der Kurve geprüften und bei dem schon früher beschriebenen aëroben Versuch, daß der Milchzucker verhältnismäßig schlecht angegriffen wird. Auch die gegenüber B. dysenteriae Shiga-Kruse geprüften Kohlehydrate zeigen das oben erwähnte Verhalten.

Tabelle III.

B. coli.

Kontrolle	24'
Erythrit	16'
Arabinose, **Milchzucker**	13'
Glyzerin	10'
Amylum, **Dextrin**, **Inulin**, **Dulzit**	9'
Glukose, **Fruktose**, **Galaktose**, **Mannose**, **Saccharose**, **Maltose**, **Mannit**	8'

B. dysenteriae Shiga-Kruse.

Kontrolle, **Milchzucker**, **Erythrit**, **Dulzit**, **Rhamnose**	18'
Arabinose, **Mannit**	13'
Stärke, **Dextrin**, **Inulin**, **Glykogen**, **Xylose**	9½'
Glukose, **Fruktose**, **Galaktose**, **Mannose**, **Maltose**, **Saccharose**	8'

Bemerkung zu der Tabelle: Technik die gleiche wie bei den kurvenmäßig durchgeführten Versuchen. Die Zahlen entsprechen den Entfärbezeiten.

1) Arch. f. Hyg. Bd. 72. 1910.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 96. S. 170.

Schlußsätze.

1) Es wird die Reduktion von Methylenblau durch Bakterien bei verschiedener Bakterienkonzentration und Mb.-Konzentration unter Vakuumverhältnissen geprüft. — 2) Die Mb.-Reduktion der Bakterien wird beeinflußt von der Art der zugesetzten Kohlehydrate, was sich in aërob und anaërob durchgeführten Versuchen zeigt. — 3) Da sich der Reduktionsablauf an das Enzym-Zeitgesetz hält, lassen sich Reaktionskonstanten berechnen, aus denen man auf die leichte oder schwere Angreifbarkeit der betreffenden Zucker schließen kann. — 4) Es wird erwogen, ob die erhaltenen Indexwerte Artmerkmale der betreffenden Bakterien darstellen.

Ueber die sogenannten Aertryckbazillen.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität zu Sendai (Direktor: Prof. Dr. K. Aoki).]

Von Prof. Dr. **K. Aoki** und Dr. **K. Sakai.**

Was man unter Aertryckbazillen versteht, wurde bisher nicht genau angegeben. Dieser Name soll von einem Orte abstammen, wo de Nobèle einen Fleischvergiftungsfall beobachtet hat. Er konnte nämlich dabei Mikroorganismen nachweisen, welche sich von Gärtner-Bazillen agglutinatorisch deutlich unterschieden. Er glaubte daher, daß außer Gärtner-Bazillen noch andere Bazillen vorhanden sein müßten, welche ebenfalls Fleischvergiftung hervorrufen können. Seit dieser Zeit wurde der Name „Aertryckbazillen“ für solche Bazillen angewandt, welche bei Fleischvergiftung nachgewiesen wurden. Deshalb möchte ich auch nach der Originalangabe von Nobèle solche Paratyphus B-Bazillen als Aertryckbazillen bezeichnen, welche bei Nahrungsmittelvergiftung von Menschen vorkommen und von Gärtner-Bazillen agglutinatorisch ganz verschieden sind. Diese Bazillen wurden überall massenhaft untersucht. Aehnliche Bazillen wurden auch bei typhösen Erkrankungen von Menschen nachgewiesen. Diese beiden Bazillenarten sind miteinander so nahe verwandt, daß man sie nur schwer voneinander unterscheiden kann. Deshalb glaubte man, daß dieselben Bakterien einmal Fleischvergiftung und ein anderes Mal typhöse Erkrankungen hervorrufen könnten. Die Differenz sollte hauptsächlich von der Menge der Bakterien abhängig sein, welche von Menschen dabei aufgenommen worden wären. Wenn z. B. die Bakterien in großen Mengen auf einmal aufgenommen würden, so sollte akute Gastroenteritis eintreten; falls sie dagegen nur in kleinen Mengen aufgenommen wurden, sollte eine typhöse Erkrankung hervorgerufen werden. Neuerdings jedoch wurde behauptet, daß beide Bakterien nicht identisch seien. Auch bei uns arbeitete man schon auf diesem Gebiet und sammelte gewisse Erfahrungen, die hier referiert werden sollen.

Bei systematischer Untersuchung vieler Stämme von Paratyphus B-Bazillen, welche sowohl von Menschen wie auch von Tieren herrührten, gelang es Aoki und Sakai, 4 repräsentierende Sera und Stämme darunter nachzuweisen. Diese Stämme und Sera waren folgende: 2 Stämme Paratyphus B-Schottmüller, welche bei typhösen Erkrankungen von Menschen nachgewiesen worden waren, und 2 andere Stämme von Mäusetyphusbazillen, welche sowohl bei Fleischvergiftung von Menschen als auch bei Haustieren aufgetreten waren. Die beiden Stämme Paratyphus B-Bazillen von Schottmüller wurden als typisch und atypisch bezeichnet; auf gleiche Weise wurden die Stämme des Mäusetyphus unterschieden. Diese 4 Stämme und die entsprechenden Sera wirkten gegenseitig folgendermaßen: Atypische Schottmüller-Bazillen agglutinierten nur in den beiden Schottmüller-Seris, ebenso agglutinierten atypische Mäusetyphussera. Typische Schottmüller-Bazillen dagegen reagierten nicht nur in den beiden Schottmüller-Seris, sondern auch in typischem Mäusetyphusserum fast ebenso stark bis zum Titer, aber in atypischem Mäusetyphusserum gar nicht. Typische Mäusetyphusbazillen agglutinierten ebenfalls nicht nur in den beiden homologen Mäusetyphusseren, sondern auch in typischem Schottmüller-Serum ebenso stark bis zum Titer, aber in atypischem Schottmüller-Serum gar nicht, wie aus Tabelle I ersichtlich ist. Durch Anwendung dieser 4 Sera konnte man Paratyphus B-Bazillen, welche bei typhösen Erkrankungen von Menschen vorkommen, von den anderen Mikroorganismen, welche verschiedene Erkrankungen von Tieren hervorrufen, deutlich unterscheiden, wie Sakai bei vielen Stämmen wiederholt nachgewiesen hat. Dabei schien es uns sehr auffallend, daß keine Schottmüller-Bazillen unter den Mikroorganismen, welche bei verschiedenen Erkrankungen von Tieren vorkommen, nachgewiesen wurden. Wir untersuchten daher die anderen Bakterien, welche bei Nahrungsmittelvergiftung gefunden worden waren, in diesen 4 Seren genau. Es handelte sich im ganzen um 3 Stämme, welche bei 3 großen Nahrungsmittelvergiftungsfällen nachgewiesen worden waren. Dazu kam noch ein Stamm, welcher als Aertryckbazillen bezeichnet war. Dabei wurde festgestellt, daß 3 Stämme, von denen 2 bei Fleischvergiftung nachgewiesen worden waren, und der 3. als Reinkultur aufbewahrt worden war, diejenigen Bakterien darstellten, welche zu den Mäusetyphusbazillen gehören, während der 4. Stamm, welcher ebenfalls bei Nahrungsmittelvergiftung nachgewiesen worden war, eine davon ganz abweichende Form darstellte. Die ersteren 3 Stämme reagierten nämlich in 2 Mäusetyphusseren bis zum Titer, aber in den beiden Schottmüller-Seris fast gar nicht. Dabei wurde aber bemerkt, daß 2 von diesen 3 Stämmen dazu neigten, leicht zu variieren, so daß sie auch in typischem Schottmüller-Serum stark reagieren konnten. In atypischem Schottmüller-Serum blieben sie jedoch immer reaktionslos. Der 4. und letzte Stamm reagierte ganz anders: Er agglutinierte nämlich in 2 Para-

Tabelle I.

Name der Sera	Typ. P. B	A Typ. P. B	Typ. Ms	A Typ. Ms
Typ. P. B (Schottmüller)	10 000	10 000	5 000	100
A Typ. P. B (Schottmüller)	10 000	10 000	100	100
Typ. Ms	5 000	100	10 000	10 000
A Typ. Ms	100	100	10 000	10 000

typhus B-Seris bis zum Titer und ebenfalls in einem typischen Mäusetyphusserum sehr stark, so daß man ihn für einen Schottmüller-Bazillus hätte halten können. Andererseits wurde aber festgestellt, daß er auch in Gärtner-Serum stark reagieren konnte. Infolgedessen wurde er durch das Isolierungsverfahren genau untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß es unter den Kolonien solche gab, welche in Gärtner-Serum ebensogut wie homologe Bazillen agglutinieren konnten. Die übrigen Kolonien reagierten wie der Originalstamm. Um Mißverständnisse zu vermeiden, wurden auch wiederholt Variationsuntersuchungen ausgeführt, wobei sich ergab, daß ein Typus von dem anderen neu gebildet werden kann. Ferner wurden noch verschiedene Uebergangsformen beobachtet. Nach diesen Resultaten kann man den 3. Stamm nicht für einfache Schottmüller-Bazillen halten, sondern muß ihn als Zwischenstufe vom Paratyphus B-Schottmüller- und Gärtner-Bazillen ansehen. Infolgedessen könnte er, je nach den Bedingungen, entweder als Gärtner- oder als Schottmüller-Bazillus seine Wirkung ausüben. Kürzlich untersuchte Schottmüller viele Stämme von sog. Aertryckbazillen. Ihm soll es gelungen sein, sie durch das Absorptionsverfahren in 8 Tagen zu zerlegen: 5 derselben wurden indirekt durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Flexner unserer Sammlung überliefert, und zwar Mutton, „g", Newport, Reading und Stanley. Diese 4 Stämme wurden in den obigen 4 Sera genau untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß der Typus Mutton zum Mäusetypus, und zwar zu dem atypischen gehört. Die anderen 4 Stämme konnten durch diese 4 Seren nicht genau bestimmt werden. Sie wurden deshalb noch in 2 anderen repräsentierenden Seris geprüft, welche von Aoki, Sakai und anderen hergestellt worden waren, und zwar in atypischem und typischem Paratyphus A-Serum. Die beiden Sera haben die gleiche Wirkung, aber unterscheiden sich insofern voneinander, als sie in atypischem Paratyphus A-Serum Hogcholerabazillen ebenso stark wie homologe Bazillen reagieren. Ebenso konnten Typhus-, typische Paratyphus B- und Mäusetyphus-Bazillen ziemlich stark darin agglutinieren. Schließlich wurden noch andere Sera zur Untersuchung gebraucht, nämlich Hogcholerasera, Abortusserum, Typhusserum und 2 Typen von Gärtner-Serum. Die agglutinatorischen Beziehungen dieser 7 Sera ersieht man aus Tabelle II.

Tabelle II.

Name der Sera	Typ. P. A	A Typ. P. A	Hog	Abortus	Ty	E. G. 3	E. G. 18
Typ. P. A	10000	10000	—	—	—	—	—
A Typ. P. A	10000	10000	10000	—	1000	—	500
Hog	—	10000	10000	—	—	—	—
Abortus	—	—	—	10000	1000	—	500
Ty	—	1000	—	1000	10000	—	500
E. G. 3	—	—	—	—	—	10000	10000
E. G. 18	—	—	—	—	—	10000	10000

Es stellte sich heraus, daß der „g"-Typus Hogcholerabazillen darstellt, während 2 andere, nämlich der Newport- und Readingtypus atypische (degenerierte?) Hogcholerabazillen darstellen. Was den Stanley-Typus anbelangt, war er schwer einzuordnen, weil er merkwürdigerweise in Typhusserum immer bis zum Titer reagierte. Ebenso reagierte er in typischem Mäusetyphusserum sehr stark.

Wenn man die obigen Resultate zusammenfaßt, so ist es klar, 1) daß es unter den Fleischvergiftern oder Aertryckbazillen keine Bazillen gibt, welche mit den Schottmüller-Bazillen identisch sind, — 2) daß die Aertryckbazillen verschiedene Bakterienarten enthalten. Unter den Aertryckbazillen fand man nämlich 1) Mäusetyphusbazillen, 2) Hogcholerabazillen, 3) agglutinatorisch atypische Hogcholerabazillen, 4) Zwischenformen von Paratyphus B- und Gärtner-Bazillen und 5) unbekannte und schwer definierbare Bazillen. Dabei muß bemerkt werden, welche Form bei Nahrungsmittelvergiftung am häufigsten nachweisbar ist. Sowohl nach unserem Material als auch nach der Angabe von Schütze scheint dies bei Mäusetyphusbazillen der Fall zu sein.

Aus obigen Ergebnissen kann man wohl schließen, daß Schottmüller-Bazillen bei Nahrungsmittelvergiftung nicht vorkommen können, doch möchten wir darüber noch kein endgültiges Urteil abgeben, weil unser Untersuchungsmaterial zu gering war.

Literatur.

Aoki, Tohoku-Journ. experim. Med. Vol. 2. 1921. p. 131. — Sakai, Ibid. Vol. 3. 1922. p. 341. — Konno und Sakai, Ibid. Vol. 3. 1922. p. 333. — Sakai, Ibid. Vol. 5. 1924. p. 275. — Aoki und Sakai, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 152. — Aoki u. a., Tohoku-Journ. experim. Med. Vol. 5. 1925. p. 452. — Sakai, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 389. — Ders., Ibid. 1926. — Aoki, Ibid. 1926. — Sakai, Ibid. 1926. — Ders., Tohoku-Journ. experim. Med. Vol. 6. 1926. — Ders., Ibid. Vol. 6. 1926.

Beitrag zur Verwertung der Coli-Agglutination.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg (Direktor: Obermedizinalrat Prof. B. Nocht — Bakteriolog. Abteilung Prof. M. Mayer).]

Von Dr. **Hermann Hees.**

Durch die Arbeiten Meyer und Löwenbergs, die fanden, daß 24 hämolytische Coli-Stämme von 4, mit hämolytischen Coli-Arten gewonnenen Seren, agglutiniert wurden, wurde aus dem Sammelbegriff des Bact. coli eine einheitliche Untergruppe isoliert. Danach scheint es möglich, ähnliche serologisch verwandte Untergruppen zu finden. Doch erschien es mir zuerst nötig, die Agglutinationsverhältnisse des Bact. coli im allgemeinen zu studieren, da über diese Fragen noch mancherlei Unklarheiten bestehen. So halten Hoffmann und Pesch die Coli-Agglutination für die klinische Diagnostik nicht verwertbar, da sie fanden, daß einerseits Laboratoriumsstämme der Coli-Gruppe durch normales menschliches Serum agglutiniert wurden, andererseits z. B. bei einzelnen Gallenblasenerkrankungen durch Bact. coli ein aus dem Stuhl

des Erkrankten isolierter Coli-Stamm vom Patientenserum nicht agglutiniert wurde. Nach den Untersuchungen von Weinsberg und Ginsbourg fanden sich im normalen menschlichen Blut in 90 Proz. der untersuchten Fälle Coli-Agglutinine. Die Titerwerte im normalen Blut übersteigen jedoch wohl kaum 1:500, und der Nachweis gelang nur mit agglutinablen Stämmen, nicht mit einem beliebig aus dem Stuhl isolierten Coli-Stamm.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. M. Mayer untersuchte ich eine größere Anzahl Coli-Stämme auf ihr Verhalten verschiedenen Coli-Kaninchenseren gegenüber. Es war mir nicht möglich, zu dieser Untersuchung die gesamte, über mehr als 30 Jahre sich erstreckende umfangreiche Literatur durchzuarbeiten; ich mußte mich auf das wichtigste beschränken. Andererseits lassen sich nicht alle, teils recht wertvollen Untersuchungen hier gebührend berücksichtigen.

I. Zunächst versuchte ich die Frage zu klären: Wie ist die Bildung von Agglutininen im Kaninchenblut nach Injektion abgetöteter Coli-Aufschwemmungen und wie verhalten sich die einzelnen Coli-Stämme diesen Seren gegenüber?

Versuchsanordnung: Es wurden 3 Vakzinen hergestellt: von einem Coli-Stamm aus dem Urin, aus dem Stuhl und von einer Cystopyelitis. 24stünd. Agarschrägkulturen wurden mit 25 ccm physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmt und die Aufschwemmung 1 Std. auf 60° erhitzt. Hiermit wurden 3 Kaninchen unter Vermeiden einer stärkeren Reaktion[1]) bis zur Gesamtdosis von 0,7 ccm Vakzine intravenös gespritzt. Mit den gewonnenen Seren wurden 27 Coli-Stämme auf Agglutination geprüft. Stamm CU und CC sind aus der bakteriologischen Sammlung des Tropen-Institutes, die anderen Stämme wurden im Januar und Februar dieses Jahres von Patienten des Institutes und anderer Krankenhäuser gewonnen.

Tabelle I zeigt den Ausfall der Agglutinationsproben 3 Tage nachdem die Gesamtdosis von 0,7 Vakzine injiziert war. Vorher wurden einige Probeagglutinationen vorgenommen, bei denen sich bereits dieselben Stämme — außer 5, 13 und 15 — als positiv erwiesen, nur mit entsprechend niedrigeren Titerwerten. Bemerkt sei noch, daß jedes Kaninchen nur mit der Vakzine eines Stammes behandelt wurde. (Siehe Tabelle I, S. 21.)

Es gelang also mit dem Stamm CU. nur ein homologes Serum herzustellen, das den eigenen Stamm bis 1:6400 agglutiniert. Einzelne andere Stämme zeigen ebenfalls positiven Ausfall der Agglutination, jedoch ist der Titer verhältnismäßig niedrig.

Mit dem Stamm CC. entstand ein Serum, das den eigenen Stamm fast nicht agglutiniert (die Reaktion 1:40 entstand erst nach der vorletzten Injektion), mehrere fremde Stämme dagegen sehr hoch agglutiniert.

Mit dem Stamm CSt. erhalten wir ein Serum, das den eigenen Stamm bis 1:1600, mehrere andere Stämme ebenfalls hoch agglutiniert.

Bemerkenswert ist jedoch besonders, daß die Stämme, die von dem ersten Serum beeinflußt werden — wenn es auch nur niedrige Titerwerte sind — mit den beiden anderen Seren ebenfalls positive, zum Teil sehr hohe Agglutination zeigen. Es ließen sich 3 Gruppen durch diese Agglutination unterscheiden. Die erste zeigt hohe Titerwerte, besonders mit dem heterologen CC.-Serum: Stamm CU und 9 (1:2560)

---

1) Stamm CC (Cystopyelitis) erwies sich als besonders toxisch. Es konnten nur Einzeldosen von 0,05 ccm Vakzine in Abstand von 1—2 Tagen gegeben werden. Bei höherer Dosis starben die Kaninchen entweder nach 2—10 Std. unter Kollapserscheinungen und starken Hämorrhagien, besonders der Lunge, Niere und Herzmuskulatur, oder zeigten frequente Atmung, Gewichtssturz und nach 10 Tagen auftretende Lähmungen.

Tabelle I.

Stamm	Serum von K. X. behandelt mit 0,7 ccm Vaccine von C. U. (Urin)	Serum von K. II behandelt mit 0,7 ccm Vaccine von C. C. (Cystopyelitis)	Serum von K. I. behandelt mit 0,7 ccm Vaccine von C. St. (Stuhl)	Herkunft der Stämme
C. U.	1:6400!	1:2560	1:1600	Coliurie } bakt. Samml. d. Tropeninstitutes
C. C.	—	—! 1:40	—	Cystopyelitis } bakt. Samml. d. Tropeninstitutes
C. St.	—	—	1:1600!	Stuhl
2	—	—	—	Coliurie } Pat. Hi.
3	1:40	1:1280[1]	1:1280	Coliurie } Pat. Hi.
4	—	—	—	Cystitis, A.
5	1:80	1:40	1:40	Cystitis, He.
6	1:40	1:160	1:320	Cystopyel., Prostatitis, K., Cholangitis
7	1:160	1:320	1:200	Cystopyelitis, L.
8	—	—	—	Cystitis, Gasbrand-Uterus, Sp.
9	1:160	1:2560	1:400	Cystitis. Bra.
10	1:80	1:160	1:40	Cystitis, W.
11	—	—	—	Cystitis, Brü.
18	—	—	—	Coliurie, F.
19	—	—	—	Cystitis, Hü.
20	—	—	—	Coliurie G.
21	1:640	1:640	1:160	Cystitis, R.
22	—	—	—	Coliurie, M.
25	1:160	1:320	1:640	Coliurie, Ca.
12	—	—	—	Stuhl } Mi.
13	1:80	1:80	1:40	Stuhl } Mi.
15	—	1:40	1:80	Stuhl, Ca.
16	—	—	—	Stuhl, Mc. D.
17	—	—	—	Stuhl, Schl.
26	—	—	—	Stuhl, Sch.
27	—	—	—	Stuhl, Re.
28	—	—	—	Cervix post abortum, S.

Tabelle II.
C. C.-Serum.

Agglutiniert mit Stamm	Verdünnung	Abgesättigt mit Stamm CU	Abgesättigt mit Stamm 3	Abgesättigt mit Stamm 7	Abgesättigt mit Stamm 9	Abgesättigt mit Stamm 21
CU. Titer 1:2560	1:80	abgesättigt	++	++	++	++
	1:320	„	++	++	++	++
	1:2560	„	++	++	++	++
3 Titer 1:1290	1:80	+	abgesättigt	+	+	+
	1:320	+	„	+	+	+
	1:1280	+	„	+	+	+
7 Titer 1:320	1:80	++	++	abgesättigt	++	++
	1:160	++	++	„	++	++
	1:320	++	++	„	++	++
9 Titer 1:2560	1:80	+	+	+	abgesättigt	—
	1:160	—	—	—	„	—
	1:640	—	—	—	„	—
	1:2560	—	—	—	„	—
21 Titer 1:640	1:80	—	—	—	—	abgesättigt
	1:320	—	—	—	—	„
	1:640	—	—	—	—	„

Erklärung: ++ grobflockige, + kleinflockige, — negative Agglutination.

1) Stamm 3 änderte während der Herstellung des Serums seine Agglutinationsfähigkeit.

und Stamm 3 (1:1280). Die zweite Gruppe, zu der ich Stamm 7, 25 und 21 rechne, werden auch noch bis 1:640 bzw. 1:320 agglutiniert. Die dritte Gruppe zeigt relativ niedrige Werte (Stamm 5. 13. 15), die auch nicht wie bei den anderen Stämmen bereits nach der ersten Injektion sichtbar wurden, sondern erst, nachdem das Serum hochwertig geworden war.

Durch Anstellen des Castellanischen Versuches versuchte ich, die Rezeptoren der einzelnen Stämme zu vergleichen. Es wurde zunächst das heterologe CC.-Serum mit je einem der 5 hochwertigen Stämme abgesättigt und mit den übrigen 4 die Agglutination angestellt (s. Tab. II, S. 21).

Das Ergebnis überraschte, da nicht wie bei anderen einheitlichen Bakteriengruppen, durch Absättigung eine Agglutination derselben Bakterienart unmöglich wird. Wir sehen vielmehr, daß die Stämme CU, 3 und 7 trotz der Absättigung des Serums mit den anderen Stämmen in jedem Falle bis zur alten Titerhöhe agglutiniert werden. Demgegenüber werden der Stamm 21 und der gutagglutinable Stamm 9 bei Absättigung mit CU., 3 und 7 fast negativ, bei Versuchsanordnung über Kreuz ist jede Reaktion verschwunden. Es ist unmöglich, bei ein und derselben Bakterienart von Paragglutination für diese letzteren Stämme zu sprechen, obwohl wir sehr an solche erinnert werden.

Nach der von Weil und Felix vorgeschlagenen Rezeptorenanalyse gelang es ebensowenig die Verhältnisse zu klären. Diese Autoren fanden in künstlich erzeugten Immunseren gegen Typhus-, Gärtner-, Paratyphus A- und B-Bazillen zwei verschieden wirkende, nämlich grobflockende und kleinflockende Agglutinine. Nach ihnen besitzen Typhus-, Gärtner-, Paratyphus A- und B-Bazillen (labile) Rezeptoren, die mit den grobflockenden Agglutininen der korrespondierenden Seren reagieren und (stabile) Rezeptoren, die mit den kleinflockenden Agglutininen in Reaktion traten. Während erstere streng spezifisch waren, wiesen letztere teilweise weitgehende Verwandtschaft auf.

Es fanden sich wohl auch in unseren drei Seren grobflockige und kleinflockige Agglutinine, doch wurde Stamm 9 in allen Seren grobflockig, Stamm 21 dagegen kleinflockig agglutiniert. Stamm 7 wiederum zeigte mit CU- und CC-Serum grobflockige, mit CSt.-Serum kleinflockige Agglutination. Stamm 3 ging sogar mit der Zeit von der grobflockigen in die kleinflockige Agglutination über.

Es finden sich jedenfalls unter den zahlreichen Coliarten Stämme, die besondere Rezeptoren zu haben scheinen, die also nicht abzusättigen sind, und Stämme, die einer größeren Gruppe gemeinsame, leicht abzusättigende Rezeptoren haben.

II. Von Wichtigkeit erschien es mir fernerhin, klarzustellen, welchen Einfluß die Verschiedenartigkeit der Coliseren auf den Ausfall der Agglutination hat; ob sich Unterschiede in dem homologen und heterologen Urincoliserum gegenüber dem Stuhlcoliserum finden ließen.

Die Agglutination mit dem Stuhlcoliserum ergibt, daß nur diejenigen Stämme, außer dem homologen, agglutiniert werden, die bereits mit den beiden anderen Seren sich als agglutinabel erwiesen. Es zeigen keinesfalls die Stuhlstämme einen höheren Titer oder stärkere Beeinflussung. Damit ist bereits so gut wie erwiesen, daß es nicht von der Art des Coliserums abhängt, ob ein Stamm agglutiniert wird oder nicht. Durch Anstellen des Castellanischen Versuches mit den beiden C.-St. und CU.-Seren wird dieses Ergebnis noch bestärkt. Es wurden die Seren mit ihrem eigenen Stamm, dem Stamm CU., der besondere Rezeptoren hatte, und dem Stamm 9, der Gruppenrezeptoren zeigte, abgesättigt.

Tabelle III.
C. St.-Serum.

Agglutiniert mit Stamm	Verdünnung	Abgesättigt mit Stamm C. St.	Abgesättigt mit Stamm C. U.	Abgesättigt mit Stamm 9
C. U. Titer 1:1600	1:80	++	—	++
	1:320	++	abgesättigt	++
	1:1280	++	„	++
7 Titer 1:200	1:80	++	++	++
	1:160	++	++	++
9 Titer 1:400	1:80	—	—	—
	1:160	—	—	abgesättigt
	1:320	—	—	„
21 Titer 1:160	1:80	—	—	—
	1:160	—	—	—
25 Titer 1:640	1:160	—	—	—
	1:640	—	—	—
C. St. Titer 1:1600	1:80	—	++	++
	1:320	abgesättigt	+	+
	1:1280	„	—	—

Tabelle IV.
C. U.-Serum.

Agglutiniert mit Stamm	Verdünnung	Abgesättigt mit Stamm C. U.	Abgesättigt mit Stamm 9
C. U. Titer 1:6400	1:80	—	++
	1:1280	abgesättigt	++
	1:2560	„	++
	1:5120	„	++
7 Titer 1:160	1:80	++	++
	1:160	++	++
9 Titer 1:160	1:80	—	—
	1:160	—	abgesättigt
21 Titer 1:640	1:80	—	—
	1:320	—	—
	1:640	—	—
25 Titer 1:160	1:80	—	—
	1:160	—	—

Erklärung: ++ grobflockige, + kleinflockige, — negative Agglutination.

Nach der Absättigung fallen wiederum Stamm 9 und 21, sowie der ebenfalls geprüfte Stamm 25 aus, während Stamm 7 und CU. unbeeinflußt bleiben. Stamm 3 wurde nicht mehr geprüft, da er, wie bereits erwähnt, sich zu stark verändert hatte. Bemerkenswert ist, daß der mit den anderen Seren inagglutinable Stamm CSt. in dem abgesättigten CSt.-Serum seine frühere Titerhöhe nicht mehr erreicht.

Die Agglutinabilität eines Colistammes ist also eine seiner unumstößlichen Eigenschaften, die bei jedem[1]) Serum, das Coliagglutinine enthält, zum Ausdruck kommt. Diese Eigenschaft kann sich, wie viele andere, mit der Zeit abschwächen (Stamm 3). Doch erweist sich der Stamm CU. als am besten agglutinabel, obwohl er bereits

1) Die Untersuchung von menschlichem Serum bei Coli-Erkrankungen ergab das gleiche Verhalten der einzelnen Coli-Stämme auch im Absorptionsversuch.

seit 5 Jahren im Laboratorium weiter gezüchtet wird. Das von Pfaundler aufgestellte Gesetz: daß der Ausfall der Serumreaktion abhängig ist von der Verwandtschaft des untersuchten Stammes zum infizierenden, — findet keine Bestätigung, denn in einem Stuhlcoliserum ist mit am besten agglutinabel ein Urinstamm, und die verwandten Stuhlstämme stehen mit ihrer Titerhöhe an letzter (!) Stelle. Tabelle I zeigt vielmehr, daß die Urincolistämme am besten und häufigsten agglutinabel sind, denn von 18 Urincolistämmen werden 9 zum Teil hochagglutiniert, während von den 8 Stuhlcolistämmen nur 2 einen Titer bis 1:80 zeigen.

Untersuchungen über einheitliches Verhalten der einzelnen Stämme in bakteriologischer Beziehung führte zu keiner bestimmten Regel, so daß es nicht möglich war, nach dem Wachstum auf verschiedenen Nährböden und anderen Merkmalen allgemeingültige Gesetze aufzustellen. Auffallend war, daß die frisch gewonnenen agglutinablen Stämme nur sehr langsam Milchzucker vergärten, doch verlor sich diese Eigenschaft bei einzelnen (3. 9. 21) rasch. Die Agglutinationsfähigkeit veränderte sich nicht dementsprechend, mit Ausnahme von Stamm 3. Hämolytisches Wachstum zeigte als einziger Stamm 6, der von einem Patienten mit septischer Coli-Erkrankung isoliert wurde.

III. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen erscheint es sehr gut möglich, die Coliagglutination für die klinische Diagnostik zu verwerten. Es muß jedoch unbedingt verlangt werden, wie dies schon Czickeli betonte, daß zur Diagnose ein gut agglutinabler Stamm — der seine Eigenschaften wie unser Stamm CU. nicht ändert — als Teststamm benutzt wird. Dieser wurde mit 10 normalen menschlichen Seren ausgewertet, in denen regelmäßig Agglutination 1:320 (bzw. 1:160) auftrat. In 11 Fällen von Colierkrankungen, in denen ich das Serum untersuchte, wurden Titerwerte von 1:2000 bis 1:8000 erhalten. Die infizierenden Stämme wurden dagegen viel niedriger, in 2 Fällen überhaupt nicht agglutiniert. Doch gerade in einem dieser Fälle war es mir besonders wertvoll, obwohl mit dem eigenen Stamm (28) wie in den 3 Kaninchenseren keine Agglutination eintrat, mit dem Teststamm durch einen Titer von 1:4000 (!) eine starke Antikörperbildung gegen Coli nachweisen zu können. Bei der Patientin, die abortiert hatte, konnte auf diese Weise der Zusammenhang des Bakterienbefundes in der Zervix mit der Erkrankung nachgewiesen werden, was sowohl in ätiologischer Beziehung, wie bei der Frage der Vakzinetherapie von Bedeutung sein kann[1]).

Zusammenfassung.

1) Es hängt von der Art des Colistammes ab, ob er agglutiniert wird oder nicht, wie die Prüfung mit künstlich erzeugten Kaninchenseren und Seren menschlicher Colierkrankungen ergibt. — 2) Die Verschiedenartigkeit homologer und heterologer Urin- und Stuhlcoliseren hat keinen Einfluß auf den Ausfall der Agglutination. Urincolistämme sind am besten agglutinabel, Stuhlcolistämme dagegen kaum. — 3) Die Coliagglutination ist für die klinische Diagnostik verwertbar, wenn man einen bekannten Teststamm, der gegenüber normalem menschlichen

---

1) Therapeutischen Wert hat sicherlich auch die serologische Diagnose von Coliinfektionen der Gallenwege, wie sich in einem Falle ergab, in dem noch die Differentialdiagnose „Luetische Hepatitis“ in Betracht kam.

Serum ausgewertet ist, zur Diagnose benutzt. Die infizierenden Stämme selbst ergeben infolge ihrer Inagglutinabilität, oder wenn sie heterologe Seren bilden, häufig negative Diagnose.

Literatur.

Czickeli, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. S. 459; Bd. 92. S. 527 — Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 39. 1924. S. 127. — Hoffmann und Pesch, Klin. Wochenschr. Bd. 2. 1925. S. 2345. — Meyer und Löwenberg, Ibid. Bd. 1. 1924. S. 836. — Pfaundler, Münch. med. Wochenschr. Bd. 10. 1899. S. 472. — Weil und Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 29. 1920. H. 1 u. 2. — Weinberg und Ginsbourg, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 90. 1924. p. 992.

Akute Gastroenteritis und typhöser Paratyphus[1]).

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen (Geh. Med.-Rat Prof. Dr. L. Heim, Prof. Dr. W. Weichardt).]

Von Priv.-Doz. Dr. **M. Knorr,** München, früher Oberarzt der Anstalt.

In medizinischen und tierärztlichen Kreisen ist besonders in den letzten Jahren viel über Paratyphus diskutiert worden. Der Mediziner versteht darunter zunächst fieberhafte Erkrankungen, die klinisch dem Typhus gleichen, also auch wie dieser in allen möglichen Formen auftreten. Ebenso gemeinsam und besonders kennzeichnend sind Roseolen, Milztumor und Leukopenie. Die Diagnose Typhus oder Paratyphus kann somit, streng genommen, erst auf Grund des Ergebnisses der bakteriologischen Untersuchung gestellt werden. Ein typhöses Krankheitsbild, das von Paratyphusbazillen (selten Bact. paratyphi A, meist B. Schottmüller) hervorgerufen wird, ist dann der landläufige „Paratyphus". Der Arzt bezeichnet aber auch das Bild des akuten Brechdurchfalles gewöhnlich mit „Paratyphus", obwohl wir hier nie Roseolen, Milztumor usw. sehen, sondern nur kurze fieberhafte Erkrankungen mit Durchfällen, Erbrechen unter Umständen nervösen Zeichen; im Gegensatz zum typhösen Paratyphus somit nicht die Merkmale einer Infektion, sondern einer Intoxikation.

Die Bezeichnung derartig verschiedener Krankheitsbilder mit einem Sammelnamen „Paratyphus" ist auf die bei beiden Erkrankungsformen meist übliche bakteriologische Diagnose „Paratyphus B-Bazillen gefunden" zurückzuführen. Man nimmt also eine einheitliche Ursache an, da in der Tat bis vor kurzem nur wenige Untersuchungsstellen eine Artverschiedenheit der bei diesen verschiedenen Krankheitsbildern gefundenen Paratyphusbazillen festzustellen vermochten. Einerseits deshalb, weil man die nähere Untersuchung der Eigenschaften dieser Keime als für den Untersuchungsbetrieb zu weitgehend ablehnte, andererseits weil man sich bei der bequemeren Diagnose „Paratyphus B-Bazillen gefunden" auf die Ansicht Uhlenhuths stützen konnte, daß es kon-

---

1) Die Arbeit wurde im September 1925 abgeschlossen (s. a. diese Ztschr. Bd. 97 S. 328*).

stante kulturelle Unterscheidungsmerkmale für die einzelnen Vertreter der Paratyphusgruppe nicht gibt. Auch serologisch war nach Uhlenhuth nur die Trennung der züchterisch gleichen „Gärtner-Gruppe" von der „Paratyphus B-Gruppe" möglich. In Süddeutschland seltener, im Norden häufiger, wurde so bei akutem Brechdurchfall der „Gärtner-Bazillus" gefunden. Eine große Anzahl klinisch der Gärtner-Erkrankung gleichende Krankheitsfälle blieb aber dem sogenannten Paratyphus B-Bazillus vorbehalten, so daß man mit vollem Recht annahm, daß die akute Gastroenteritis und der typhöse Paratyphus vom gleichen Keim hervorgerufen werden können.

Schon 1902/3 hatten Drigalski-Conradi, Jürgens und Fischer auf ein kulturmorphologisches Kennzeichen mancher Paratyphusbazillen, die sog. Schleimwallbildung hingewiesen. R. Müller hat 1913 die Schleimwallbildung gerade bei den typhös verlaufenden Fällen gesehen, diese Eigenschaften jedoch auch bei Gärtner-Stämmen festgestellt und als weitere kulturmorphologische Unterscheidung die Knöpfchenbildung der Schleimwallbildner auf Raffinoseagar angegeben.

L. Bitter hat sich dann in zahlreichen Arbeiten mit großem Material für die ursächliche Trennung „akute Gastroenteritis" (erzeugt durch das nicht schleimwallbildende B. enteritidis Breslau und das schleimwallbildende, aber serologisch von B. paratyphi B Schottmüller zu trennende Bact. ent. Gärtner) und „typhöser Paratyphus" (erzeugt durch das schleimwallbildende Bact. paratyphi B Schottmüller) eingesetzt. Die Diff.-Diag. ist nach Bitter vor allem durch die oben erwähnte Schleimbildung, durch den Tierversuch und die Agglutination möglich.

Trotz der sorgfältigen Arbeiten der Kieler Schule und Bestätigung der bakteriologischen Ergebnisse durch Kliniker, wie Schittenhelm, konnte sich die Lehre nicht allgemein durchsetzen. Die von Uhlenhuth bis in die jüngste Zeit vertretene Unmöglichkeit der kulturellen Trennung der Paratyphus B-Bazillen wurde von zahlreichen Forschern bestätigt und erweitert. Die mehr diagnostisch eingestellten Untersuchungsstellen haben die Forderungen Bitters meist nicht berücksichtigt. Wäre allgemein, das kann man heute wohl sagen, das frische Material dieser Anstalten nach den Gesichtspunkten der Kieler Schule geordnet und gesichtet worden, dann wäre das Paratyphusproblem heute in anderen Bahnen. Darin sehe ich die Ursache der Meinungsverschiedenheiten: ein frischer Stamm verhält sich unter Umständen züchterisch ganz anders als ein Laboratoriumsstamm, von den jahrelang in den Instituten weitergeführten Teststämmen ganz zu schweigen. Diese Teststämme haben die Verwirrung nur vergrößert und man täte gut daran, diese Teststämme prinzipiell in allen Laboratorien als Teststämme zu streichen. Es darf auch nicht übersehen werden, daß die Wallbildung nur auf optimal eingestellten Nährmitteln erscheint. Wir haben also in der reichlichen Verwendung der Ersatznährmittel in Kriegs- und Nachkriegsjahren eine weitere Ursache der Meinungsverschiedenheiten in bakteriologischen Kreisen zu sehen. Und schließlich muß zugegeben werden, daß man sich erst nach manchen Irrwegen in die Biologie eines Keimes einarbeitet bzw. eine Anstalt darauf einstellt, selbst dann, wenn der Keim zu den leicht züchtbaren, anspruchslosen Bakterien zählt. So kommt es, daß die Stellen, die sich eingehend mit frischem Material über die Paratyphusfrage beschäftigt haben, grundlegende Gegensätze in ihren Befunden nicht aufzuweisen haben (R. Müller, Bitter, Kathe, Grätz und wir).

Meine Untersuchungen über Paratyphus reichen bis 1920 zurück. Sie wurden durch den Gebrauch der Gelatinemischplatten zur bakteriologischen Diagnose der Typhusgruppe veranlaßt, wofür besonders

L. Heim eingetreten ist. Es fiel auf, daß statt der von Heim beschriebenen und photographierten kuppenförmigen Kolonie des Paratyphus B häufig bei frischen Stämmen Weinblattformen auftraten. Die Stämme einer Epidemie verhielten sich fast durchweg gleich. In Lehrbüchern und Veröffentlichungen fand ich entsprechend beide Kolonieformen als Paratyphus B-Kolonien beschrieben und abgebildet. Bei weiterem Nachforschen ergab sich nun, nachdem ich mit vielen von verschiedenen Seiten erhaltenen Teststämmen manchen Irrweg gegangen war, daß die Weinblattformen bei der akuten Gastroenteritis, die Kuppenformen beim typhösen Paratyphus auftraten. Diese Befunde habe ich seit 1923 im Sinne der Forderungen Bitters nachgeprüft und dabei die Epidemiologie, das kulturmorphologische Verhalten, den Tierversuch, die Serologie und die Züchtung bearbeitet.

1. Epidemiologische Ergebnisse.

a) Paratyphus B (Schottmüller). Von 54 Erkrankungen, wo Paratyphus B Schottmüller nachgewiesen werden konnte, erhielt ich ausführlichere klinische Mitteilungen.

45 Erkrankungen waren als leichter, mittelschwerer und schwerer Typhus bzw. Paratyphus bezeichnet worden; nie fehlte ein Vorstadium mit Benommenheit, Abgeschlagensein, Kopfschmerzen. Roseolen, Milztumor, Leukopenie und Fieber veranlaßten oder sicherten den Verdacht oder die Diagnose einer typhösen Erkrankung. Schnell vorübergehende, nicht im Zusammenhang stehende ganz leichte Erkrankungen von 1—2tägiger Dauer mit Bazillenbefund waren 4 zu verzeichnen. Choleraähnlichen Beginn, aber typhösen Verlauf mit Schottmüller-Befund zeigten 3 nicht zusammenhängende Einzelerkrankungen. Atypischen, choleraähnlichen Beginn und atypischer, brechdurchfallähnlicher Verlauf konnte bei einer angeblich auf Genuß von stinkendem Rehfleisch zurückgeführten Familienerkrankung, die 6 Persanen (davon 2 mit B. Schottmüller im Stuhl) betraf, festgestellt werden.

45 Erkrankungen entsprechen also den Angaben Bitters; gegen den Paratyphus ambulatorius wird ebenfalls kaum einzuwenden sein, daß er regelwidrig sei, da es auch diese Erkrankungsform beim Typhus gibt. Es muß also der atypische regelwidrige choleraähnliche Beginn einer Schottmüller-Infektion besprochen werden. Hierzu ist zu bemerken, daß der Beginn einer infektiösen Erkrankung und die Form des Beginnes im wesentlichen durch die aufgenommene Keimmenge bedingt ist. Das alltägliche der Schottmüller-Infektion ist die direkte Uebertragung weniger Keime von Mensch zu Mensch, oder der Kontakt mit einem infizierten Stoff, der eine üppige Vermehrung der Keime nicht gestattete. Geschieht die Infektion durch ein Nahrungsmittel, dann wird die Art des Beginnes ganz von der Vermehrungsmöglichkeit der Keime und der aufgenommenen Menge abhängen. So sehen wir einen Fall nach reichlichem Schlagrahmgenuß wenige Std. später akut beginnen, in dem zweiten hatte die pflegende Mutter reichlich Gelegenheit, große Keimmengen von zwei erkrankten Kindern aufzunehmen, über den dritten Fall fehlen mir nähere Angaben. Diese 3 Fälle können somit nicht als Material gegen die Ansicht der Kieler Schule Schule verwendet werden, da ja der typhöse Verlauf die Eigenart des Erregers anzeigte. Als Beweis gegen die Lehre der Kieler Schule könnte dann die zuletzt aufgeführte Familienerkrankung nach Rehfleischgenuß angeführt werden. Wenn auch noch der atypische Beginn durch die massive Infektionsdosis erklärt werden könnte, der Verlauf wäre einer solchen Infektion widersprechend. Ich habe bald die Kranken aus unserem Untersuchungsbereich verloren und öftere Untersuchungen nicht anstellen können. An anderer Stelle war es noch möglich, zwei Personen öfters zu untersuchen, und es wurden Gärtner-Bazillen gefunden! Auch diese Erkrankungen widersprechen somit nicht den Befunden Bitters.

Es wird natürlich hie und da schwer sein, ein nicht ganz eindeutiges Krankheitsbild bei Fehlen von objektiven, sicher für eine typhöse oder gastroenteritische Erkrankung sprechenden Zeichen, klinisch eindeutig zu bezeichnen. Daraus kann man aber kaum die Berechtigung ableiten, den ursächlichen Zusammenhang der typischen Krankheitsbilder mit bestimmten Arten zu leugnen.

Von den 54 Erkrankungen waren 11 Einzelerkrankungen. Die übrigen 43 Erkrankungen setzten sich meist aus den bei Schottmüller so häufigen Familienerkrankungen zusammen. Mehr als 5 miteinander in nachweisbarer Beziehung stehende Erkrankungen (bakt. geklärt!) wurden nicht festgestellt. Wenn diese Zahl verhältnismäßig klein ist, so kommt dies zunächst daher, daß die einsendenden Aerzte, wenn der erste Fall oder gleichzeitig mehrere geklärt sind und das Krankheitsbild gleich oder ähnlich ist, von weiteren Einsendungen absehen. Zur Untersuchung nach Genesung besteht jedoch für Paratyphus keine Verpflichtung!

Als Infektionsquelle wurden festgestellt 8 Erkrankungen in der Familie oder nächsten Umgebung, 4 Bazillenträger in diesen Kreisen. Auf Genuß von Nahrungsmitteln war zurückzuführen die schon erwähnte Erkrankung nach Schlagrahmgenuß und mehrere Fälle, die im Anschluß an ein Hochzeitsessen auftraten. Die Infektionsquelle bei der Hälfte der Fälle blieb unklar. Die Inkubationszeit betrug durchschnittlich 8—14 Tage.

Zur Frage des Trägertums bei Schottmüller-Keimen möchte ich noch einige Beobachtungen bringen.

In einer Familie waren 3 Erkrankungen aufgetreten und bakteriologisch sichergestellt worden. Sofort wurde die übrige Familie untersucht und bei weiteren 3 Personen (15, 21, 23 Jahre alt) innerhalb dreier Tage reichlich Schottmüller-Keime im Stuhl gefunden, ohne daß diese Personen erkrankt waren oder sich an eine ähnliche Erkrankung hätten erinnern können. Ich möchte bezweifeln, daß es sich bei diesen jugendlichen Personen um Dauerausscheider gehandelt hat. Nach 2 negativen Untersuchungen waren weitere Proben nicht mehr erhältlich. Am gleichen Ort hatte ich einige Tage vorher in einer Familie einen eindeutigen Brechdurchfall (Bact. Breslau) festgestellt und dadurch eine willkommene Gelegenheit, auch diese Familie zu untersuchen. Bei einem ebenfalls jugendlichen Familienmitglied fand ich nun Bac. Schottmüller; eine Erkrankung war nicht vorhanden, frühere Erkrankungen wurden in Abrede gestellt. Nach einer negativen Probe waren auch hier weitere nicht erhältlich. Diese Feststellungen sind um so beachtenswerter, weil zur gleichen Zeit am gleichen Ort und anderwärts (wo ich allerdings nicht Gelegenheit hatte, umfangreichere Umgebungsuntersuchungen zu machen) Schottmüller-Erkrankungen in auffallender Häufung festgestellt wurden. In den Monaten Februar, März, April der Jahre 1924/25 wurde keine, im Januar 1925 nur eine Schottmüller-Erkrankung festgestellt.

Ich habe auch die jahreszeitliche Ausscheidung von acht periodischen Ausscheidern geprüft mit dem Ergebnis, daß in den Monaten Januar, Februar, März und April auf 13 Untersuchungen eine Ausscheidung trifft, während in den übrigen Monaten schon auf 7,5 Proben eine positive kommt. Diese Beobachtungen können natürlich nur anregen, nach Ursachen zu forschen. Kißkalt hält es für wahrscheinlich, daß Typhus- und Cholerabazillen gerade im Herbst und in größerer Zahl ausgeschieden werden, weil leichte Darmkatarrhe zu dieser Jahreszeit häufiger sind. Derartige leichte Störungen können bei temporären Ausscheidern häufiger und in größerer Zahl Bazillen im Stuhl erscheinen lassen.

Bei den sogenannten Eintagsausscheidern von Bac. Breslau werde ich noch diese Fragen streifen.

Von 54 Erkrankten blieben 2 Frauen im Alter von 34 und 60 Jahren Dauerausscheider. Man muß dabei in Betracht ziehen, daß bei vielen Fällen die Feststellung der Dauerausscheidung mangels einer gesetzlichen Unterlage überhaupt nicht möglich ist.

Stets ist man auf das Entgegenkommen der Aerzte und der Bevölkerung angewiesen, um fortlaufend Untersuchungsstoffe zu erhalten. Im allgemeinen nimmt man an, daß die Schottmüller-Erkrankung 4 Proz. Dauerausscheider zurückläßt. Legt man aber das mustergültig eingesandte Material der mittelfränkischen Heil- und Pflegeanstalten ab März 1923 zugrunde, so bleiben von 20 bakteriologisch geklärten Schottmüller-Fällen 6 Dauerausscheider, und zwar 4 Frauen (Alter

35, 42, 51, 66 Jahre) und 2 Männer (53, 54 Jahre), die noch 6 Monate nach dem 1. Befund ausschieden. Daraus würden sich 30 Proz. Dauerausscheider ergeben! Angenommen, die unreinen Kranken dieser Anstalten wären besonders disponiert, so wird man doch kaum auf diesen Faktor allein die große Zahl der Dauerausscheider schieben können, zumal auch in anderen verseuchten Gegenden unseres Untersuchungsbereiches die persönliche Reinlichkeit eine sehr bescheidene war. Die regelmäßigen Einsendungen gestatten eben eine größere Ausbeute und einen richtigen Begriff von dem Verhältnis der Keime zum menschlichen Körper. Wären die Einsendungen so erfolgt, wie es freiwillig bestenfalls bei Schottmüller-Erkrankungen einige Male geschehen ist, und bei Ruhr und Typhus gefordert werden kann, um die Absonderung aufzuheben (2 Stuhlproben nach Ablauf des Fiebers in einem Zwischenraum von einer Woche entnommen müssen negativ sein[1]), dann wäre der Prozentsatz der festgestellten Träger auch nicht höher als 4 Proz.

Es entsteht nun die Frage, ob man überhaupt die Dauerausscheider für so gefährlich halten soll wie etwa bei Typhus. Die beste Antwort hierauf gibt uns das Massenexperiment des Krieges.

Während infolge der Schutzimpfung Typhus von Jahr zu Jahr abnahm und praktisch ab 1917 überhaupt keine Rolle mehr spielt, sehen wir eine immer mehr ansteigende Zahl von Paratyphuserkrankungen, so daß schließlich Paratyphus neben Grippe und Ruhr eine Kriegsseuche war (Bumke). Man wird kaum etwas dagegen einwenden können, wenn dies Bumke als Folge der immer stärkeren Durchsetzung der Truppe mit Dauerausscheidern ansieht, die, im Gegensatz zu Typhusausscheidern, im Kriege nicht isoliert wurden. Daß dabei Breslau keine große Rolle spielte (wie überhaupt die bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen im Kriege nicht hervorgetreten sind, (Knorr, 2), kann man wohl aus der Beobachtung von L. Heim entnehmen, daß allein im Etappenlaboratorium 6 in den letzten Kriegsmonaten 200 Paratyphus B-Stämme anfielen, die auf Gelatine die typische Kuppenform bildeten. Daß es sich hier um nichts anderes handeln kann als um den Schottmüllerschen Keim, werde ich später zu zeigen versuchen. Wir sind also auch mit großer Wahrscheinkeit mit einer viel höheren Zahl von Schottmüller- als Typhusträgern aus dem Kriege gegangen[2]).

Wenn trotzdem die Erkrankung nicht überall (von einer Zunahme wird z. B. in Holstein, Rheinlanden u. a. O. berichtet) stärker hervortritt, so kann ich das zunächst nach den oben niedergelegten Beobachtungen nur durch die geringere Neigung des männlichen Geschlechts, insbesondere in den wehrpflichtigen Jahren, zum Dauerträgertum überhaupt erklären. Es muß aber auch auffallen, daß Epidemien, wie wir sie bei Typhus unter der gleichen Bevölkerung öfter auftreten sahen, von Schottmüller nie hervorgerufen worden sind. (Eine gute Uebersicht über Schottmüller-Epidemien findet sich bei W. Gärtner.) Es blieb immer bei sehr beschränkten Herden. Die Empfänglichkeit des Menschen scheint so für Schottmüller geringer zu sein als für Typhus, wofür ja auch der im allgemeinen mildere Verlauf der Erkrankungen zu sprechen scheint. Dieser mildere Verlauf hat natürlich meist das Fehlen der ärztlichen Behandlung zur Folge (Weigmann). Da aber feststeht, daß die Erkrankung von Mensch zu Mensch übertragen werden kann, und dies wahrscheinlich der häufigere Infektionsweg ist, muß der Kranke und der Bazillen ausscheidende Mensch in den Vorschriften über die Bekämpfung übertragbarer Krankheiten ebenso behandelt werden, wie der Typhuskranke und Bazillenausscheider. Wenn ein Unterschied außer in den Erregern besteht, so liegt

1) Bekanntmachung über die Bekämpfung übertragbarer Krankheiten vom 9. 5. 1911. § 10, VII. Ges. u. Verordn.-Blatt f. d. Königr. Bayern. S. 426; Veröffentl. des KGA. 1911. S. 616.

2) = Ausscheidung länger als 6 Monate; zur Truppe kamen die Ausscheider schon nach einigen Wochen!

er wahrscheinlich nur in geringerer Disposition des Menschen und schwächerer Virulenz für den Menschen. Die Berücksichtigung dieser Faktoren für die Schottmüller-Bekämpfung ist aber gesetzgeberisch unmöglich, da die Disposition nicht an umgrenzbare Begriffe (z. B. Alter, Geschlecht) geknüpft ist und eine Virulenzbestimmung der Keime, wie sie vielleicht für Dauerausscheider in Frage käme, heute noch nicht möglich ist.

b) Nahrungsmittelvergiftungen durch Bac. enteritidis Breslau. Von 50 Erkrankungen, wo Bacillus enteritidis Breslau gefunden wurde, erhielt ich eingehendere klinische Angaben.

Bei 47 Kranken war das Bild der akuten Gastroenteritis ganz eindeutig: Beginn wenige Stunden, höchstens 1 Tag nach Genuß des beschuldigten Nahrungsmittels mit Erbrechen und Durchfällen, hier und da nervösen Zeichen; anfänglich ganz bedrohliche Erscheinungen gehen schnell zurück, wir finden nach einigen Tagen oft ursprünglich Schwerkranke genesen. Kurz das Bild einer meist schnell vorübergehenden Intoxikation, ein bezeichnender Gegensatz zur Infektion beim typhösen Paratyphus.

Bei 3 Kranken mit Breslaubefund traten typhöse Erscheinungen auf, ohne daß ich Erreger einer typhösen Erkrankung hätte nachweisen können. Bei diesen Kranken war nun die Umgebung typhuskrank; 2mal gelang der Nachweis der Breslaukeime nur im Stuhl, 1mal auch im Blut, und zwar in der 4. Krankheitswoche. Die Gruber-Widalsche Reaktion wurde nur in einem Fall ermöglicht, und war hier eindeutig für Typhus positiv. Ich kann diese Fälle nicht als hinreichend zur Annahme erachten, daß objektive Typhussymptome durch Breslaukeime erzeugt werden können. Wie Bitter, muß ich derartige Behauptungen auf die Möglichkeit der Mischinfektion zurückzuführen. Es wäre auch sehr wohl denkbar, daß die schwerer nachweisbaren Typhusbazillen entgehen, während die im geschädigten Darm zufällig überwuchernden Breslaukeime, zwar keine pathogene Bedeutung haben, aber bei der leichteren Nachweisbarkeit gefunden werden.

Als Ursache dieser Erkrankungen war mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen: 10mal Streich-Fleisch-Leberwurst, Preßsack oder Preßkopf, 2mal Schweinefleisch, 1mal Pferdefleisch und 1mal Hackfleisch unbekannter Herkunft, 3mal tierärztlich beschautes, 1mal nicht beschautes Kuhfleisch, schließlich 1mal billiger Käse. Der Nachweis der Keime gelang nur in 3 Nahrungsmittelproben, fast stets war das Nahrungsmittel aufgegessen worden.

Die Beschlagnahme von angeblich gleichen Nahrungsmitteln ist meines Erachtens sehr skeptisch zu beurteilen. Die Verkäufer verdorbener Nahrungsmittel erfahren nämlich meist immer zuerst von den Erkrankungen und haben oft schon von vornherein beim Verkauf ein schlechtes Gewissen. In 5 Fällen soll die Wurst schlechten Geruch oder Geschmack gezeigt haben. 5mal soll das Fleisch gekocht worden sein, so daß an die Möglichkeit einer gewissen Hitzebeständigkeit der Toxine gedacht werden muß.

Die bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen haben in den letzten Jahren stark zugenommen und ihre Zahl hat die der Vorkriegsjahre überschritten.

An dieser Zunahme sind, wie ja auch aus meiner Aufstellung hervorgeht, in erster Linie die Fleischvergiftungen schuld, deren Steigen Lentz in einer ausführlichen Arbeit darlegt (Zahlen für Preußen 1911/13 : 2196, 1921/23 : 7014). Die Zunahme der Fleischvergiftungen, eine Bezeichnung, die M. Müller nur für intravital infiziertes Fleisch gelten lassen will, ist trotz der Abnahme des Fleischkonsums (nach Foth war der Fleischkonsum 1913 doppelt so hoch wie 1922) zunächst darauf zurückzuführen, daß infolge des Fleischmangels in der Nachkriegszeit in steigendem Maße not-[1]) und schwarz geschlachtet wurde. Die Fleischbeschau schützt allerdings auch nicht stets vor der Erkrankung, da man am Fleische trotz der vorhandenen Infektionserreger

1) Hierfür einige Zahlen: 1913 betrugen die Notschlachtungen bei Rindern 2,09 Proz., 1921 3,59 Proz., bei Pferden 5,15 Proz. bzw. 22,85 Proz. (!) der Gesamtschlachtungen (Kuppelmayr).

Veränderungen nicht zu sehen braucht, worauf besonders M. Müller hingewiesen hat. Nur die bakteriologische Untersuchung kann hier Sicherheit schaffen und das meist besonders stark infizierte Fleisch notgeschlachteter Tiere ausschalten. Eine geringe Infektion mag jedoch besonders bei alleiniger Verwendung der gänzlich ungeeigneten, aber in Schlachthoflaboratorien oft gebrauchten Elektivnährböden entgehen. Nur Anreicherung in Nährflüssigkeiten ist hier aussichtsreich (s. a. Poppe).

Dann sind die Ansprüche des Publikums an die Qualität in und nach dem Krieg sehr niedrig gewesen und es hat sich eine Fleischgier eingestellt, die an türkische Verhältnisse erinnert. Ich habe es dort erlebt, daß Kadaver, die den Bosporus herunterschwammen, vom Straßengesindelt herausgeholt und ohne weiteres verzehrt wurden.

In N. kamen nun Massenerkrankungen nach Genuß einer Mettwurst vor. Der bald benachrichtigte Metzger zog es deshalb vor, noch nach Ladenschuß eine größere Menge der restlichen Wurst in den benachbarten Schiffahrtskanal zu werfen. Dort wurde sie abgetrieben und mehrere Kilometer unterhalb von Leuten herausgefischt und teilweise an Ort und Stelle verzehrt. Diese Personen erkrankten genau so wie die Konsumenten der frischen Wurst an akuter Gastroenteritis.

Außer dieser Fleischgier gewisser Teile der Bevölkerung, die die sonst üblichen Anforderungen an Appetitlichkeit übertönt, kommt auch das Hamstern sowohl der Verbraucher wie der Metzger für das Steigen der Fleischvergiftungen zu besorgniserregender Höhe, wie Lentz schreibt, in Betracht. Fleischvergiftungen wie in Nürnberg, wo zentnerweise verdorbene Fleisch- und Wurstwaren von der angekündigten (!) Kommission gefunden wurden (Fränkischer Kurier 8. 8. 24), sind wohl darauf zurückzuführen, daß die Metzger bei niedrigem Preis sich über die Maßen eingedeckt hatten, da ein Steigen der Preise zu erwarten war. Fällt nun in eine solche Zeit Absatzstockung und hohe Außentemperatur, dann ist die natürliche Folge, daß sich dies in einer Häufung von Fleischvergiftungsfällen ausdrücken muß.

Ein infiziertes Nahrungsmittel ist nämlich noch nicht vergiftet, es kann ohne Schaden vom Menschen genossen werden. Erst die Möglichkeit des ausgiebigen Wachstums der Keime im Nahrungsmittel (günstige Temperatur und dazu lange Aufbewahrung, Zerkleinerung des Fleisches, flüssige und halbfeste Beschaffenheit) führt von der Infektion mit Zunahme der Keime und ihrer Stofwechselprodukte zur Vergiftung. So kommt es, daß Fleisch und Organe des gleichen Tieres einerseits ohne Schaden genossen werden und andererseits die akute Gastroenteritis erzeugen.

Die Infektion geschieht beim Fleisch angeblich häufig intravital.

Die Keime sind Bewohner der Schleimhäute, besonders der Darmschleimhaut unserer Schlachttiere (Uhlenhuth u. a.). Bei einer Herabsetzung der natürlichen Widerstandskraft, wie sie durch alle möglichen Erkrankungen gegeben sein kann, wandern sie in Muskulatur und Organe aus. Auch primäre Erkrankungen durch derartige Keime kommen bei Tieren vor, sind aber nicht sehr häufig.

Der postmortale oder indirekte Infektionsweg soll beim Fleisch seltener sein; die indirekte Infektion ist jedoch bei anderen Nahrungsmitteln, die zur akuten Gastroenteritis führen können, die Regel, Ausnahmen sind selten (z. B. Infektion der Milch im Tier).

Der indirekte Infektionsweg weist zunächst auf Ratten und Mäuse hin. Nach den Feststellungen der Kieler Schule ist der Löfflersche Mäusetyphusbazillus nichts anderes als der Bac. enteritidis Breslau. Ich habe mit 4 Stämmen das gleiche Ergebnis erhalten.

Obwohl schon von jeher die Menschenpathogenität des Mäusetyphusbazillus bekannt war (Bonhoff) und auch neuerdings wiederholt über Erkrankungsfälle durch derartige Keime berichtet wurde (Wreschner, Willführ u. Wendt-

landt, s. a.: Raebiger u. Bahr, Uhlenhuth), wird immer noch zu unvorsichtig bei der Ausstreuung der bakteriellen Rattenvertilgungsmittel, die fast durchweg lebende Breslau- oder Gärtner-Keime enthalten, verfahren. Wir erzeugen dadurch auch künstlich Bazillenverstreuer unter diesen Bewohnern der Schlachthöfe, Küchen und Speisekammern. Sicherlich ein sehr häufiger indirekter Infektionsweg. — Um noch ein Beispiel der indirekten Infektion zu nennen: eine nicht infizierte Fleischmasse kommt in einen normalen, schlecht gereinigten, mit Keimen behafteten Darm, ein Stück Fleisch wird auf Eis gelagert, das auch die Keime enthalten kann, eine Fliege überträgt die Keime von einem infizierten Nahrungsmittel, und so weiter. Nur angedeutet sei, daß nur eiweißhaltige Nahrungsmittel zur akuten Gastroenteritis führen. Besonders in Betracht kommen außer Fleisch Milchspeisen, Käse, Fisch (Junghanns, Bitter) und Konserven.

Erkrankungen fehlten nur im Januar, Februar und März, sie waren nicht in dem Maße, wie die Schottmüllererkrankungen, Spätsommer- und Herbsterkrankungen. Eine Häufung ist meist bei plötzlich einsetzender warmer Witterung zu verzeichnen.

Neben 23 Einzelerkrankungen, meist hervorgerufen durch schlecht aufgehobene Wurstwaren, waren 9 Familien- bzw. Anstaltserkrankungen festzustellen. Als Ursache der Beschränkung auf eine Familie kommt wieder schlechte Aufbewahrung, dann Genuß eines Nahrungsmittels, insbesondere das Essen von Resten vom Tag vorher, Hausschlachtung, der Einkauf eines „letzten Stücks“ oder eines „Restes von Hackfleisch“ in Frage. Einmal war auch auf eine geschenkte Streichwurst eine Familienerkrankung zurückzuführen. Epidemien erstrecken sich auf einen gewissen Kundenkreis oder Teilnehmer an einem gemeinsamen Mahle (z. B. bei irgendeiner festlichen Gelegenheit).

Die Zahl der Erkrankungen in den letzten 3 Jahren ist mindestens auf 600 zu schätzen. (Bevölkerungszahl rd. 1,6 Mill..) Manche Epidemie ist mir sicherlich entgangen. da die ländliche Bevölkerung bei den oft sehr geringen Krankheitserscheinungen keinen Arzt ruft, und es dem Zufall überlassen bleibt, wenn Behörden von gehäuften Auftreten einer Erkrankung etwas erfahren, und dann der Sache auf den Grund gehen. Es wurde aber auch berichtet, daß die Aerzte die Erkrankung nicht ernst genommen hätten. Wenn dies auch bei Erkrankungen jüngerer und kräftiger Personen die richtige klinische Einstellung sein mag, so wird doch die Prognose bei Personen über 50 Jahre und solchen Leuten, die gesundheitlich (z. B. als tuberkulös, s. a. Minkowski) nicht auf der Höhe sind, ernster zu stellen sein. Mehrere Todesfälle betrafen solche Personen. Mit 1 Proz. ist die Mortalität nicht zu hoch angegeben.

Besondere Aufmerksamkeit habe ich der Frage der Ausscheidung gewidmet.

Neufeld ist der Ansicht, daß Dauerausscheider, wenn auch selten, vorkommen, und schließt sich damit der üblichen Annahme an. Ich habe in keinem Fall eine Dauerausscheidung nachweisen können. Das ist ein wesentlicher Gegensatz zur Schottmüller-Infektion! Wir werden dadurch veranlaßt, die „bakteriologische Genesung“ und die Bewertung des Bazillenbefundes bei Gesunden zu besprechen.

Es gelang, auch aus der Bevölkerung nach Brechdurchfall öfters Proben zu erhalten. Gewöhnlich verschwanden die Keime in 8—14 Tagen nach dem Erkrankungsbeginn aus dem Körper. Ausscheidung zuerst im Stuhl und dann, was bei Schottmüller-Erkrankungen gar nicht so selten ist, nach längerer Unterbrechung im Urin, war nicht nachzuweisen. Auffallenderweise habe ich nun bei 2 Kindern unter 3 Jahren bis 14 Wochen nach der Erkrankung ziemlich regelmäßig die Keime im Stuhl nachweisen können, darüber hinaus ist es mir jedoch nicht gelungen.

Unter den zahlreichen Dauerausscheidern der Heil- und Pflegeanstalten, die häufig untersucht werden, befindet sich kein einziger Breslauausscheider.

Der Fund der Keime bei Gesunden und bei primär nicht an akuter Gastroenteritis Erkrankten bedarf noch der Erwähnung.

Was die 1. Gruppe betrifft, so habe ich bei 8 körperlich völlig gesunden Pfleglingen von Heilanstalten, die nach der Krankengeschichte

auch früher nie darmkrank waren, Breslaukeime gefunden. Am: 1. 10.; 25. 10.; 21. 11.; 25. 11.; 25. 11.; 30. 11.—2. 12. (4mal); 2. 12. 1924; 4. 1. 1925.

Ferner wurden bei 4 Personen aus zufällig eingesandten Umgebungsuntersuchungsproben klinisch Gesunder Breslaukeime gezüchtet: 7. 8.; 25. 11. bis 19. 10. (2mal); 13. 11.; 16. 12. Vom Juni bis Dezember 1924 standen nun auffällig Nahrungsmittelvergiftungen an der Tagesordnung. Außerdem habe ich Breslaukeime vom 15. 10. 24 bis 23. 1. 25 3mal bei einem Typhuskranken gefunden.

Oefter als einmal war bei Kranken und Gesunden der Keim in 5 Fällen nachzuweisen. In 4 Fällen handelt es sich um Personen, bei denen wir eine stark herabgesetzte Widerstandfähigkeit des Körpers und Darmes annehmen müssen (2mal schwere Gastroenteritis bei Kindern unter 3 Jahren, 1mal Typhus bakteriell sichergestellt, 1mal eine unreine 75jährige Geisteskranke, die sich mit Urin wusch).

Der Nachweis von Paratyphusbazillen bei Personen, die primär an einer anderen Erkrankung leiden oder litten, ist keine Seltenheit. (Rimpau, Gaethgens, Bumke u. a.). Leider fehlt jedoch die Differenzierung in Breslau und Schottmüller. Es muß so die Frage nach dem etwa unterschiedlichen Verhalten von Breslau und Schottmüller unbeantwortet bleiben. Wir sehen wiederum nur aus derartigen Befunden, wie der kranke oder geschädigte Darm bzw. Körper die zeitweise Ansiedlung dieser und anderer sonst pathogener Keime ohne nachweisbare klinische und serologische Reaktion gestattet. Freilich wird es beim Fehlen der Gruber-Widalschen Reaktion sehr schwer sein, bei einer typhösen Erkrankung mit Typhus- und Schottmüller-Bazillenbefund zu entscheiden, ob man hier eine Mischinfektion, und welche, oder eine Infektion annehmen soll. Positive Gruber-Widalsche Reaktion für Gärtner, Typhus und Paratyphus B spricht nach Rimpau immer für Typhus. Bei einer typhösen Erkrankung mit Breslaubefund werden wir die Breslaukeime stets als Nebenbefund auffassen dürfen. In 2 Fällen, die ich beobachten konnte, war dies sicher der Fall.

Die Möglichkeit besteht, daß eine Infektion durch eine andere abgelöst wird, obwohl anzunehmen ist, daß alle Erreger von vornherein im Körper anwesend waren. Ich habe einen solchen Fall ausführlich geschildert (Mischinfektionen von Ruhr, Glässer-Voldagsen, „Pty B“ 1). Ob Breslaukeime eine echte Infektion wie z. B. Schottmüller- und Typhuskeime primär erzeugen können, ist meines Wissens auch nicht entschieden, wir müssen sie so lange ebenso wie den Bac. botulinus als toxikogene (Wirkung durch Endotoxin, Wobith) Saprophyten ansehen, wenn wir den Infektionsmechanismus der akuten Gastroenteritis betrachten und die Verbreitung der Keime in der Natur bedenken.

Wie können wir uns nun das Zustandekommen solcher „Mischinfektionen“ erklären? Ich muß hier zunächst noch einmal auf die Feststellung zurückgreifen, daß zu Zeiten größerer Verbreitung von Schottmüller-Erkrankungen der Keim häufiger bei Gesunden den Darm durchwandert und auch bei periodischen Ausscheidern — wenn auch an kleinem Material — zu diesen Zeiten eine größere Ausscheidung zu bemerken war. Ob die Häufigkeit des Keimes beim Menschen zu gewissen Zeiten auf klimatischen Einflüssen oder bestimmten Ernährungsbedingungen beruht, wissen wir noch nicht, während wir mit einiger Wahrscheinlichkeit bei den Breslauerkrankungen Zusammenhänge finden können.

Von den Breslaukeimen wissen wir, daß sie weit verbreitet sind und besonders mit Kot und Urin unserer Schlacht- und Nagetiere verstreut werden. Wir gehen so kaum fehl in der Annahme einer stets gleichen Höhe der Verbreitung besonders in unseren Fleischwaren. Diese Höhe wird durch qualitative Aenderung der Zusammensetzung unserer Nahrung überschritten, z. B. Häufung von Notschlachtungen, Zunahme von

Unreinlichkeit in den Nachkriegsjahren. Das auffallende Zusammentreffen der akuten Gastroenteritis mit plötzlichem Einsetzen höherer Außenwärme und das Vorkommen in der wärmeren Jahreszeit überhaupt weisen darauf hin, daß zu diesen wärmeren Zeiten der Keim durch seine Vermehrung häufig den allein für den Menschen gefährlichen Zustand der Vergiftung des Fleisches und der Wurstwaren herbeiführt.

Die häufigen Befunde von alimentären Ausscheidern zu Zeiten der Erkrankungen stehen mit der größeren Verbreitung des Keimes in unmittelbarem Zusammenhang. Sieht man das Schrifttum in dieser Richtung durch, so sind leider nur wenige Angaben zeitlich festgelegt. Immerhin fand Komma im Hochsommer unter 102 Wurstproben 30 mit Paratyphusbazillen infiziert, Glaser unter 22 Proben im Juli 11, im Oktober 18, im November 7, im Dezember je eine mit den Keimen behaftet. Sobernheim fand im Frühherbst bei 40 Spickgänsen 4 mit Paratyphusbazillen, die oft zitierte Beobachtung Rimpaus, daß eine paratyphushaltige Leberwurst keine gesundheitlichen Störungen verursacht hatte, fällt in den Oktober.

Dagegen fanden Mühlens, Dahm und Fürst im Winter 1906 bis 1907 in Berlin unter 57 Fleischsorten niemals Paratyphusbazillen.

Zusammenfassend kann man also mit großer Wahrscheinlichkeit die alimentäre Ausscheidung bei 12 körperlich gesunden Personen aus verschiedenen Orten zu Zeiten häufigeren Vorkommens von akuter Gastroenteritis als Indikator für die zeitweise größere Verbreitung dieser Keime auf den Nahrungsmitteln auffassen. In gleicher Weise muß ich trotz Fehlens von Ty.-Bazillennachweis und Blutuntersuchung in einem Falle 3 Typhuserkrankungen mit Breslaufund erklären. Während wir aber bei Breslau die jahreszeitliche Vermehrung außerhalb des menschlichen Körpers vermuten müssen, sprechen die Beobachtungen bei Schottmüller-Eintagsausscheidern eher dafür, daß die „Infektionsmöglichkeit" durch Kranke in der näheren Umgebung gegeben war. Gemeinsam ist beiden Keimarten die größere Verbreitung gerade in der zweiten Hälfte des Jahres und die Möglichkeit, als Saprophyten den Darm des Menschen zu passieren; verschieden ist fast durchweg der Charakter der erzeugten Erkrankung und der Infektionsmechanismus. Entsprechend dieser gegensätzlichen Reaktion finden wir beim Infektionserreger Schottmüller echte Dauerausscheider, die wir im strengen Sinne des Wortes bei dem Nahrungsmittelvergifter Breslau nie finden konnten.

In den Vorschriften über die Bekämpfung übertragbarer Krankheiten kann die Zusammenfassung „Fleisch-, Fisch-, Wurstvergiftung (Paratyphus)" kaum länger aufrecht erhalten werden[1]). Für Schott-

---

1) Hierher gehörig, muß Botulismus genannt werden. Den derzeitigen Stand unserer Kenntnisse habe ich (2) schon vor einiger Zeit niedergelegt. Unterdessen habe ich von 3 Botulismus-Ausbrüchen gehört, verursacht 1mal durch Preßsack, 2mal durch Schinken. Die Symptome waren stets so, daß an der Diagnose kein Zweifel besteht. Dank dem Entgegenkommen der behandelnden Aerzte Dr. Herrmann, Priv.-Doz. Dr. Teschendorf, habe ich die gewünschten Untersuchungsstoffe erhalten und in einem schweren Falle von der raschen Wirkung des Höchster polyvalenten Serums erfahren, meines Wissens der 1. Fall, wo es mit Erfolg erprobt wurde. Leider wurde diese einzig und allein aussichtsreiche Therapie bei 5 Erkrankungen, darunter 3 schweren, verweigert, so daß ein Todesfall zu verzeichnen war. Der Nachweis von Bac. bot. in Erbrochenem oder Kot besagt bei der Ubiquität des Keimes in der Natur wenig. Ueberdies ist schon der Nachweis des Keimes in den Nahrungsmitteln wegen der oft leidigen Mischinfektion mit widerstandsfähigen Sporenbildnern erschwert. Es dürfte deshalb von Interesse sein,

müller muß all das gelten, was für Typhus gilt, für Breslau muß der Gesichtspunkt maßgebend sein, daß eine Weiterverbreitung der akuten Gastroenteritis von Mensch zu Mensch durch Kranke und Gesunde nicht in Frage kommt. Nur die rasche Erfassung der vergifteten Nahrungsmittel kann eine Epidemie beschränken. Die Meldepflicht muß sich schon deshalb, abgesehen von den häufigen gerichtlichen Folgen derartiger Erkrankungen, auch auf den Verdacht erstrecken.

2. Der Nachweis der Paratyphusbazillen.

Man kann wohl ganz allgemein behaupten, daß die Paratyphusbazillen von allen pathogenen Darmkeimen, abegesehen von den Choleravibrionen, am leichtesten nachgewiesen werden können.

Durch die Vorkultur des Stuhles auf Malachitgrünplatten, die allerdings bei jedem neuen Guß auf ihre Leistungsfähigkeit geprüft werden müssen, und nicht älter als 24 Std. sein dürfen, werden die Paratyphuskeime aus Stuhlproben zum üppigen Wachstum gebracht, während Bact. coli und eine große Zahl anderer Darmsaprophyten zum mindesten stark zurückgehalten, bei guter Einstellung aber auch ganz unterdrückt werden können. Aber selbst, wenn andere Keime auch noch zum Wachsen kommen, können wir durch die Abschwemmung der Malachitgrünplatte mit steriler 0,85proz. Kochsalzlösung nochmals eine Auswahl treffen. Wir haben bisher jede Stuhl- und Urinprobe nach diesem von Lentz und Tietz sowie O. Mayer angegebenen Malachitgrünverfahren behandelt. Die Abschwemmung wurde auf eine Kristallviolettagarplatte (12 cm Durchm.) ausgesät.

Neuerdings erschien eine Arbeit von Killian, in der es geradezu als Kunstfehler angesehen wird, wenn man bei einer Paratyphusepidemie nicht Brillantgrün verwendet, und es wird die Brillantgrünbrühe als alleiniges Verfahren für den Nachweis der Paratyphuskeime im Stuhl und Urin empfohlen.

Ich habe mich streng an die Angaben von Killian gehalten, in 10 ccm Kochsalzlösung eine dichte Stuhlaufschwemmung aus verschiedenen Partien bereiten lassen und davon 0,1—0,2 ccm in Brillantgrünbrühe (9,9 natursaure Nährbrühe pH 6,8 + 0,1 Brillantgrün 1:1000. stets frisch bereitet) ausgesät und nach 18 Std. Bebrütung wie die Malachitgrünabschwemmung auf Kristallviolettagar (Platte 12 cm D) ausgesät. Von den eingesandten Urinen wurde stets 1,0 ccm zur Anreicherung in Brillantgrünbrühe gebracht. Das Ergebnis von 689 Stuhl- und 311 Urinuntersuchungen ist: 66 Proben positiv für Paratyphus (Breslaust. in Klammern), 21 für Typhus, 3 für Pseudo-Dys.

		0 + M + B	0	M	B	0 + B	0 + M	M + B
Stuhl	Pty	7 (3)	1	20 (13)	14 (7)	2	3	15 (6)
	Ty	0	7	7	0	0	2	3
Urin	Pty	0	0	1 (1)	3 (2)	0	0	0
	Ty	0	1	0	1	0	0	0

0 = Originalausstrich auf Kristallviolettagar, M = Malachitgrün, B = Brillantgrünverfahren.

Außerdem wurde je einmal mit Brillantgrün allein, mit Brillant- und Malachitgrün und durch Originalausstrich Pseudodysenterie gezüchtet.

Man bekommt somit ganz allgemein mit dem Brillantgrünverfahren allein schlechtere Egebnisse als mit dem Malachitgrünverfahren allein (Verhältnis der positiven Befunde 20:33). Was nun die Paratyphuszüchtung betrifft, so sind dem Brillantgrünverfahren 25 (14) Stämme entgangen. Da durch beide Ver-

daß mir der Nachweis des Toxins im Meerschweinchenversuch, in einem Falle im Serum des Erkrankten gelungen ist (cfr. Dickson, Edmunds u. Long, Semerau u. Noack). Das Antitoxin der Höchster Farbwerke schützte im Kontrollversuch. Botulismus ist eigentlich in Bayern nicht meldepflichtig, denn die Anzeige von Erkrankungs- und Todesfällen erstreckt sich nur auf die paratyphöse Fleisch-, Fisch- oder Wurstvergiftung!

fahren nur 1 Stamm nicht gefunden wurde, ist die Kombination beider Methoden empfehlenswert und sollte in jedem Untersuchungsbetrieb durchgeführt werden. Wertlos ist das Brillantgrünverfahren für die Untersuchung des Stuhles auf Typhusbazillen, während auf diesem Wege allein aus dem Urin mancher Stamm gezüchtet werden kann, der sonst entginge, worauf auch Killian hinweist. Da wir aber über die Verbreitung der Paratyphuskeime besonders beim Menschen noch nicht so unterrichtet sind, wie es epidemiologisch nötig wäre, und bei Typhus doch recht häufig Paratyphuskeime gefunden werden, wird auch bei Typhusuntersuchungen die Vornahme beider Verfahren zu erwägen sein.

Ausgezeichnet bewährt hat sich die Vorkultur in Brillantgrünbrühe, hierauf Aussaat auf Malachitgrünagar und danach Abschwemmung auf Lackmuslaktoseagar mit Kristallviolett in Fällen, wo leidige Verunreinigungen der Proben (insbesondere in Fäulnis übergegangene Leichenteile oder Nahrungsmittel) die Herauszüchtung mit Hilfe einer Methode unmöglich gemacht hatte.

Warum einmal das Malachit-, das andere Mal das Brillantgrünverfahren versagt, kann mit Sicherheit nicht angegeben werden. Stämme, die mehrmals aus Proben einer Person herausgezüchtet wurden, ließen keine deutliche Empfindlichkeit für Malachit- oder Brillantgrün erkennen; auch die Trennung in Schottmüller- und Breslaustämme ermöglicht keine Erklärung. Am wahrscheinlichsten war es nur Zufallssache, wenn z. B. der in Brillantgrün ausgesäte Stuhlteil die Keime enthielt, der auf Malachitgrün dagegen nicht, so daß man mit mehreren Malachitgrünaussaaten zum gleichen Ergebnis gekommen wäre, wie durch die Kombination des Malachit- mit dem Brillantgrünverfahren. Denkbar wäre auch, daß die Begleitkeime einmal mehr gegen Malachit-, einmal mehr gegen Brillantgrün empfindlich sind.

3. Die Artunterscheidung in der Paratyphusgruppe.

a) Die züchterische Unterscheidung von Breslau und Schottmüller.

Bringt man die Stämme, die sich beim typhösen Paratyphus finden, auf gewöhnlichen Fleischwasseragar mit Peptonzusatz, bebrütet 18 Std. bei 37° und dann nochmals 1—2 Tage bei 18—22°, dann tritt die sog. Wallbildung auf.

Sie war bei meinen frischen Stämmen stets deutlich ausgeprägt und konnte bei Betrachtung mit 30—40facher Vergrößerung auch dann nicht entgehen, wenn die punkt- und strichförmigen Aussaaten nur an wenigen Stellen die Erscheinung zeigten.

Bereits R. Müller hat darauf hingewiesen, daß die Wallbildung an den benachbarten Seiten zweier Kolonien nicht auftritt. Gibt man zum Agar 7 Proz. Lackmustinktur, dann erscheinen die Aussaaten in satter grauer Farbe.

Nur bei älteren Stämmen fand ich ein Abweichen von diesem Verhalten. Während der Wallbildung bei frischen Stämmen auf Gelatinemischplatten die kuppenförmige Oberflächenkolonie entspricht, treten bei älteren Kulturen daneben Weinblattformen auf. Sie können noch die von L. Heim beschriebene flammenförmige Zeichnung erkennen lassen und werden meist nach einigen Tagen trüb und undurchsichtig. Diesem Auftreten von Weinblattformen geht auf Agar ein Ausfall der Wallbildung parallel. Wir finden sie nur an wenigen Stellen einer Kolonie, vielleicht nur in Spuren und können sie auch ganz vermissen. Impft man vom Wall ab, so erhält man fast stets auf Gelatine Kuppenformen, wallose Abschnitte führen zu Weinblattformen mit oder ohne flammenförmige Zeichnung.

Bac. enteritidis Breslau frisch gezüchtet, zeigt auf dem oben genannten Agar unter den gleichen Bedingungen keine Wallbildung, sondern in der Mitte der Ansiedlung beginnende Faltenbildung, wie wir sie vom Bac. mesentericus her kennen. Die Faltenbildung tritt ebenfalls nur bei Z.T. auf und läßt den Rand der Ansiedlung frei.

Sie gibt schließlich der Ansiedlung ein korallenförmiges Aussehen. Die Kolonien erscheinen bei Lackmuszusatz in schönem preußisch Blau.

Alle meine Stämme von akuter Gastroenteritis zeigten dies Verhalten. Die Ansiedlungen auf Gelatineplatten waren weinblattförmig und blieben durchscheinend. Meist waren die Weinblattformen ähnlich wie Coli-Kolonien gezeichnet, bei einigen Stämmen traten in verschiedenen Kolonien festungsgürtelartige Zeichnungen auf, ein strahlig gezeichneter Randsaum war ebenfalls hie und da vorhanden. Diese Zeichnung der Breslaukolonien ist nicht beständig, sondern verliert sich meist sehr rasch (vgl. die Beobachtung von Hage, Bitter auf Agarplatten!).

Während ältere Schottmüllerstämme Weinblattformen abspalten können, spalten ältere Breslaustämme niemals Kuppenformen ab, stets zeigen Breslaukolonien auf Gelatine Weinblattformen.

Es gelang mir so stets, züchterisch die Typentrennung Schottmüller-Breslau durchzuführen und mit dem bakteriologischen auch den klinischen Hauptbefund abzugeben, bzw. den Arzt um Mitteilung zu bitten, ob mein Befund mit dem seinen übereinstimme, was, von den bisher besprochenen Ausnahmen abgesehen, stets der Fall war.

b) Die Differentialdiagnose menschlicher und tierischer Paratyphusstämme nach dem Verfahren von Th. und D. Smith.

Th. und D. Smith fanden, daß eine Brühekultur des menschlichen Paratyphus nach 4—6tägiger Bebrütung trotz 1 Proz. Milchzuckergehalt Gasbildung durch eingeimpfte Coli-Stämme nicht mehr gestattet. Die Vorkultur der tierischen Stämme (sog. Hogcholera-Gruppe = Pestifer-Stämme) soll dagegen das Gasbildungsvermögen durch Coli nicht beeinträchtigen. Unterdessen sind diese Angaben von Besson und de Lavergne bestätigt, von F. Kauffmann abgelehnt worden. A. v. Jeney hat sich besonders eingehend mit dieser Reaktion beschäftigt, ohne zu einem abschließenden Urteil zu kommen.

Bei der Bedeutung der mit Hilfe dieser Reaktion versprochenen Artunterscheidung in der Paratyphusgruppe habe ich größere Versuchsreihen angesetzt.

Als Nährflüssigkeit nahm ich tryptische Rinderblutkuchenverdauungsbrühe nach Knorr (3), eingestellt auf pH 7,4. Die Flüssigkeit ist nach den Untersuchungen Rothers praktisch zuckerfrei. Sie wurde nach Zusatz von 7 Proz. Lackmus und 1 Proz. Milchzucker mit folgenden Stämmen beimpft: 9 Schottmüller, 7 Gärtner, 19 Breslau (einschl. 2 Mäusetyphus), 1 Stutenabort, je 1 Paratyphus Schwein und Kalb, 3 Suipestifer (2 vom Typ Kunzendorf, 1 vom Typ. Bernhardt), 3 Erzindjan und 1 Glässer. Nach 6 Tagen bei 37° zeigten alle Röhrchen (ausgenommen Stutenabort, wo nur Bodenbelag war) diffuse Trübung, Säurebildung war nicht festzustellen. Die Röhrchen wurden dann mit einem menschlichen, kräftig Gas aus Milchzucker bildenden Coli-Stamm beimpft (1 Tropfen einer 24stünd. Brühekultur). Schon nach 8 Std. war die Flüssigkeit gerötet. Nach 4tägiger Bebrütung wurde abgelesen.

Es fand sich in der Tat stets fast keine oder nur spurweise Gasbildung bei den Schottmüller-Stämmen.

Nur einmal ließ ein Stamm in einem Versuch starke Gasbildung zu, in einem anderen dagegen auch nicht in Spuren! Die Gärtner-Stämme zeigten ein ähnliches Verhalten, einmal war auch hier ein Stamm völlig hemmend, im anderen Versuch überhaupt nicht hemmend, im allgemeinen war jedoch die Tendenz zu hemmen deutlich ausgesprochen. Breslau hemmte ebenso fast stets völlig, einige Male fast völlig, einmal nicht (die Mäusetyphusstämme stets völlig), der Stutenabortstamm beeinflußte die Gasbildung des Coli nie. Der Kälber- und Schweineparatyphus hemmte

meist nur schwach; einmal derselbe Stamm jedoch kaum, ein anderes Mal völlig. Die Suipestifer-, Glässer- und Erzindjan-Stämme hemmten meist nicht, einige Male nicht völlig, zweimal ganz (einmal Suipestifer-Bernhardt und einmal Kunzendorf).

Wenn somit auch das angegebene Phänomen noch zu unregelmäßig auftritt, um praktisch bei der Paratyphusdiagnose Verwendung zu finden, so ist doch unzweifelhaft an der Sache manches Interessante. Insbesondere fiel mir auf, daß sich die Stämme mit demselben Coli-Stamm gleich verhalten. Vielleicht hatten die Autoren besonders günstige Stämme in Händen. Möglich wäre auch, daß die zahlenmäßige Erfassung (A. v. Jeney) der Versuche mit chemisch besser definierbaren Nährmitteln manche dunklen Seiten des ganzen Vorganges klärt. Leider gestattete der laufende Betrieb damals derartige Versuche mit frischen Stämmen nicht.

c) Die Differentialdiagnose auf serologischem Wege.

Wenn es auf so einfache und sichere Weise züchterisch gelingt, die Schottmüller- und Breslaustämme zu trennen, dann ist es für die Praxis einer Untersuchungsanstalt nicht angängig, umständlichere Untersuchungen anzustellen. Sie ließen sich höchstens verantworten, wenn die züchterische Trennung nicht sicher und spezifisch genug oder das Ergebnis mit serologischen Reaktionen wesentlich schneller zu erzielen wäre. So wichtig und nötig so die Rezeptorenanalyse zur weiteren Differenzierung in der Paratyphusgruppe ist (Schiff), für die bisher als menschenpathogen erkannten Stämme wird sie die in wenigen Minuten mögliche Agar-Aussaat zahlreicher, an einem Tage angefallener Paratyphen nicht verdrängen können.

Nicht zu entbehren ist die Agglutination der verdächtigen Stämme mit guten spezifischen Seren, schon deshalb nicht, weil sich der Bazillus Gärtner züchterisch nicht vom Schottmüller unterscheidet, aber sicher durch die Agglutination erkannt werden kann[1]).

Es wurden 60 Schottmüller-Stämme mit einem selbsthergestellten Schottmüller- und Breslau-Kaninchenserum (Titer je 1:8000) und einem Gärtner-Serum der S.S.W. (Titer 1:10000) ausgewertet.

18 Proz. der Stämme sprachen auf Grund einer beträchtlich höheren Agglutination für Schottmüller, die Hälfte der Stämme zeigte für Schottmüller und Breslau gleich hohe Agglutination, Breslauserum beeinflußte in 32 Proz. Schottmüller-Stämme bedeutend höher als das Schottmüller-Serum. Von Gärtner-Serum wurden 26 Proz. der Stämme in Verdünnungen 1:100—1000 schwach geflockt.

Zur Breslaudiagnose soll nach Bitter und anderen auch die einfache Agglutination brauchbar sein[2]).

60 Breslaustämme wurden mit den gleichen Sera wie die Schottmüller-Stämme geprüft. In 92 Proz. sprach die Höhe der Agglutination eindeutig für Breslau, nur 8 Proz. der Stämme wurden von Schottmüller und Breslauseren gleich hoch agglutiniert. Eine Mitagglutination im Gärtner-

1) Es finden sich gelegentlich Stämme, die einerseits keinen Wall bilden, andererseits aber vom Gärtner-Serum bis zum Endtiter beeinflußt werden. Da bisweilen auch Gärtner-Stämme verspätet aus Traubenzucker Gas bilden und die Rezeptorengemeinschaft von Typhus und Gärtner bekannt ist (Seligmann), kann man in Verlegenheit kommen. Nie wird das der Fall sein, wenn man sofort bei Reinzucht Gelatineplatten angelegt hat; die zarte weinblattförmige Typhuskolonie ist mit Sicherheit von der schleimigen, kuppenförmigen Gärtner-Kolonie zu trennen.

2) Zur Schottmüllerdiagnose ist die Agglutination nicht geeignet, sie ist nur ganz allgemein zur Feststellung eines Paratyphusstammes nötig.

Serum 1:100 bis 1:1000 war nur bei 2 Proz. der Stämme vorhanden, also auffallend geringer als bei Schottmüller-Stämmen.

Man findet oft Paratyphusstämme, die vom Körper weg überhaupt von keinem Serum beeinflußt werden (Uhlenhuth, Rimpau u. a.). Man wird öfters umzüchten und nochmals die Probe anstellen. Manchmal findet man dann sehr gute Agglutination, häufig jedoch ist man gezwungen, ein Serum herzustellen und seine Agglutinationskraft für andere Paratyphusstämme der gleichen Art festzustellen. Einfacher ist die Prüfung des herausgezüchteten Stammes mit dem Patientenserum. Hohe Agglutinationswerte, Steigen des Titers im Verlauf der Erkrankung und geringe Höhe oder Zurückgehen anderer Agglutinationen können wohl als spezifische Erscheinung aufgefaßt werden. Handelt es sich nicht um Einzelerkrankungen, so wird auch die wechselseitige Agglutination Aufschluß geben können.

In einem Internat erkrankten 6 Personen an typischer Gastroenteritis, die auf Schinkengenuß zurückgeführt werden mußte. Es fanden sich im Stuhl, in einem Falle auch Blut, Keime, die als Bact. ent. Breslau nach ihrem züchterischen Verhalten angesprochen werden mußten. Die Stämme wurden von 3 Breslausera, 2 Schottmüller-Sera und einem Gärtner-Serum nicht beeinflußt. Aber die Sera der Kranken agglutinierten nicht nur die Eigenstämme bis 6400, sondern auch die Stämme der übrigen Kranken bis zur gleichen Höhe und die Agglutinationskraft der Sera stieg im Verlauf der Erkrankung.

Verschiedentlich habe ich Stämme nach Tierpassage nochmals ausgewertet und dabei manche Besonderheiten feststellen können.

Ein Schottmüllerstamm wurde z. B. vor der Tierpassage von Schottmüller-Serum 1:4000, Breslauserum 1:8000 agglutiniert. Der Stamm aus dem Tier zeigte die doppelten Werte. Ein anderer Stamm zeigte für beide Sera nur Verklebung in der Verdünnung 1:1000. Der Stamm aus dem Darm verhielt sich genau so, der aus der Milz wurde jedoch vom Schottmüller-Serum 1:4000, vom Breslauserum 1:500 gut geflockt, der Stamm aus dem Blut war inagglutinabel.

Auch die Versuche mit Breslaukeimen zeigten meist eine geringere Verklebung der Blutstämme. Man hatte übrigens den Eindruck, daß die Stämme aus Organen meist spezifischer agglutiniert wurden als die Stämme vor der Tierpassage.

d) Die Differentialdiagnose durch den Tierversuch.

I. Im Fütterungsversuch mit **Schottmüller**-Keimen soll die weiße Maus am Leben bleiben, während sie einer derartigen Breslauinfektion meist innerhalb 8 Tagen erliegen soll. Der Tierversuch beansprucht also eine viel zu lange Zeit, um für die Untersuchungspraxis in Frage zu kommen. Ich habe die Versuche in dieser Richtung nur zur Kontrolle und Ergänzung der bisher besprochenen Differenzierungsmittel herangezogen. Weiterhin wollte ich dadurch eine gewisse Basis zu Untersuchungen über die Disposition der weißen Mäuse für paratyphöse Erkrankungen gewinnen, zumal mir Herr Prof. Dr. M. A. Busch (damals noch am pathologischen Institut der Universität Erlangen) seine Unterstützung in den einschlägigen Fragen zugesichert hatte.

Im ganzen habe ich 96mal Schottmüller-Stämme verfüttert [1]).

---

1) Die Technik der Fütterungsversuche war: Mäuse im Gewicht von 15—20 g wurden mit hartem, weißen Brot, das mit der keimhaltigen Flüssigkeit getränkt war, gefüttert. Das Brot hatte durchschnittlich ein Gewicht von 1 g; die Keimaufschwemmung wurde in 3 ccm phys. steril. Kochsalzlösung durch gründliches Verreiben einer 1 mm Oese Kultur, die fast durchweg von einzelstehenden Kolonien auf Gelatineplatten stammten, hergestellt. Das Brot blieb in der Aufschwemmung 2—3

In 23 Versuchen verendeten die Mäuse, und zwar gingen ein in der 1. Woche 2 (davon mit Keimbefund im Herzblut oder den Organen 2), in der 2. Woche 8 (5), in der 3. Woche 5 (4), in der 4. Woche 4 (3), in der 5. Woche 1 (0), in der 6. Woche 3 (2).

Von den Stämmen, die die Mäuse getötet hatten, waren bei der Fütterung bis zu 14 Tagen alt 8, 14 bis 50 Tage 8; 65, 150 und 200 Tage je 1 Stamm. 4 Stämme waren von Herrn Prof. Bitter geschickt, ihr Alter ist mir nicht bekannt.

Von den 73 Mäusen, die am Leben blieben, waren gefüttert mit bis zu 14 Tage alten Stämmen 16 (r. 22 Proz.), mit 14 bis 50 Tage alten 22 (30 Proz.), mit 50 bis 100 Tage alten 4 (5 Proz.), mit 100 bis 200 Tage alten 11 (15 Proz.), 200 bis 250 Tage alten 7 (9 Proz.). Ein Stamm war 300 Tage alt, das Alter war unbekannt bei 12 (16 Proz.) der Stämme.

Uebersicht über die Fütterungs- und Todestage.

1. 11. 1924	Wi, a; Fr	5. 3. 1925	**Kiel 3 ×; 13.; 14.; 20. 3.**
7. 11. 1924	Wi, b	21. 3. 1925	Kiel 4 ×; Ge, a
14. 11. 1924	Stei	23. 3. 1925	Sche; **Sche 3. 4.**
26. 11. 1924	**Bo. 12. 12.**; Hü, b	25. 3. 1925	**Kiel 26. 4.; Se, a 23. 4.**; Se, a; Se a; Kiel
1. 12. 1924	Ro	26. 3. 1925	Ge b; Scho
3. 12. 1924	**Hü, b 6. 12**; Am	27. 3. 1915	Hir 3 ×
10. 12. 1924	Hü, a; Le	14. 4. 1925	XXII 3 ×
12. 12. 1924	**Tro, a 8. 1.**	5. 6. 1925	To 5 ×; Ho 3 ×; **Ho 8. 6.; Ho 5. 7**; Se, b; Se, b; **Se, b; 26. 6.; Se, b 29. 6.**
19. 12. 1924	**Fra** (2 ×); Ble c	22. 7. 1925	**Zwal 4. 9.; Stä 9. 8**; Gie; Wi
13. 1. 1925	Tro, b	23. 7. 1925	Re; Sche; Hab
16. 1. 1925	He	5. 8. 1925	Sa; Sa
10. 2. 1925	Ba, a; b; **c 19. 2.** dgl. je 2 × a, b, c	14. 8. 1925	Wö; **Hei 10. 10.**; De; **Bay 29. 8.**; Stä; **Na 24. 9.**
11. 2. 1925	Ze, a; b; c; d; Fri; Ki		
14. 2. 1925	Ba, a; b		
20. 2. 1925	Ba, d; Hi; **Hir 28. 2.**: Bars; Bar; Hir		
27. 2. 1925	**Se, a 3 ×; 8.; 8.; 9. 3.**		

Bei folgenden Versuchen war die Disposition für das Angehen der Schottmüller-Infektion durch schädigende Faktoren erhöht:

1. Hü,a vom 3. 12.; Recurrensmaus, Milz reicht bis zur Blase!

2. Ba,e vom 10. 2.; Hir 20. 2.; Se,a (3 Versuche) vom 27. 2.; Kiel (3 Versuche) vom 5. 3. Diese Versuche fallen in die im Vorfrühjahr 1925 aufgetretene Kältewelle. Die Temperatur war vom 20. 2. bis 25. 2. stets unter 0°, am 4. 3. war ein plötzlicher Temperatursturz unter 0° zu verzeichnen und zwischen 8. und 18. waren wiederum nur Tage unter 0°. Vom 10. 2.—20. 3. waren 29 Schottmüller-Mäuse im Versuch. Außerdem standen im gleichen Raum noch ungeimpfte und mit anderen Keimen infizierte Tiere. Die eingegangenen Schottmüller-Mäuse standen aufallenderweise der Außenwand des Raumes am nächsten. Man kann auch deshalb nicht annehmen, daß die Mäuse nur erfroren seien, weil bei 7 Tieren makroskopisch Lebernekrosen, starke Enteritis im oberen Dünndarm und Milzvergrößerung vorhanden war. In 5 Fällen, die zur Kontrolle Herrn Prof. Dr. Busch geschickt wurden, erhielt ich die histologische Bestätigung. Es wäre somit nur noch der Einwand möglich, daß die Tiere normalerweise Breslaukeime im Darm gehabt hätten, die durch die Kältewirkung pathogen geworden seien[1]). Bei 5 Tieren wurden aber aus den Organen nur Schottmüller-Keime gezüchtet! Dies waren von den 23 eingegangenen Tieren die einzigen, die makroskopisch oder histologisch an der Leber nachweisbare Veränderungen aufwiesen. Das mag an der schweren Nach-

---

Minuten liegen. Die Tiere wurden stets von mir persönlich gefüttert, die Aufnahme des Brotes genau überwacht und unter gleichen Verhältnissen Kontrollmäuse gehalten. Die Fütterung mit zu großen Dosen wurde so stets vermieden, auf alle Fälle bleiben die Mengen weit hinter den Gaben Bitters. Für derartige Versuche wäre natürlich stets die genaue Dosierung durch Zählung, wie dies in den Versuchen von Barnewitz geschah, vorteilhafter. Wie aus den genauen Untersuchungen von Barnewitz hervorgeht, ist mit Sicherheit anzunehmen, daß meine Breslau-Gaben stets über der kleinsten tödlichen Gabe lagen.

1) cfr. Knorr 4.

weisbarkeit der alten Leberveränderungen nach der 3. Woche (auch bei Breslauinfektionen) und vor dem 4. Tag liegen, verdient aber bei dem typhösen Verlauf der Schottmüller-Infektionen der Maus besondere Beachtung.

3. Ho vom 5. 6. (2 Versuche); Se, b (2 Versuche). Es waren wiederum Tiere genommen worden, die eine Recurrensinfektion überstanden hatten.

4. Von den übrigen 10 Mäusen, die nach Schottmüller-Fütterung eingingen, waren 7 auffallenderweise mit ganz frischen Stämmen gefüttert worden. Eine Maus wies bei der Zerlegung die bekannte streifige Muskulatur auf, es handelte sich also um ein sehr altes Tier.

Ich habe auch versucht:

1. die Disposition für Schottmüller durch Vorfütterung mit Schottmüller-Keimen zu erhöhen.

Gef. am	mit	Gef. am	mit	Ergebnis
13. 1. 1925	Tro, b	20. 2. 1925	Se, a	† 26. 2. 1925
10. 2. 1925	Ba, b	13. 3. 1925	Fro, b	† 15. 3. 1925
10. 2. 1925	Ba, b	dgl.	Kiel	† 21. 3. 1925
14, 2. 1925	Ba, b	„	Fro, b	† 17. 3. 1925
10. 2. 1925	Ba, c	„	Se, a	lebt
11. 2. 1925	Ze, a	„	Kiel	lebt
	Fri	„	Kiel	† 21. 3. 1925
20. 2. 1925	Hi	„	Gea	lebt

Von 8 Mäusen gingen also 5 an der zweiten Schottmüller-Fütterung zugrunde. Diese Tiere standen neben den anderen oben genannten, jedoch nicht zunächst der Außenwand, wohl auf dem gleichen Tisch. Die nochmalige Fütterung hatte sie anscheinend noch empfindlicher für die Entwärmung gemacht! Die gefütterten Stämme waren alle über 5 Wochen (Kiel?) alt. Der Organbefund dürfte wiederum allen Zweifel an der spezifischen Infektion beseitigen. Nur ein Tier hatte makroskopisch nicht die typischen Lebernekrosen. Alle anderen zeigten schon makroskopisch diese Veränderungen, und ich erhielt auch hier in 2 Fällen, die ich zur Kontrolle Herrn Prof. Dr. Busch sandte, bestätigt daß hier leukozytäre Reaktion und Lebernekrosen in gleicher Weise zu finden sei wie bei Tieren, die an Breslauinfektion eingegangen seien.

Während aber in den früheren Versuchen (siehe unter 2) in den Organen von 5 Mäusen bei 8 Versuchen die Keime gefunden wurden, gelang dies hier nur in einem Fall von 5 Versuchen. Man könnte dies auf eine durch die Vorfütterung erzielte Bakterizidie zurückführen.

2. Durch diese Versuche wurde ich angeregt, zu untersuchen, ob bei einer Mischfütterung Breslau-Schottmüller beide Keime wieder aus den Organen herauszuzüchten seien.

Dies gelang in 6 Versuchen stets. Die Tiere zeigten makroskopisch die typischen Veränderungen, Herr Prof. Dr. Busch bestätigte den Befund der Lebernekrosen und fand in 2 Fällen diese Veränderungen, wo sie makroskopisch entgangen waren.

3. Weitere Versuche sollten zeigen, ob die etwa noch im Körper der Mäuse befindlichen Schottmüller-Keime durch spätere Breslauinfektion wieder nachweisbar würden.

Es wurden 18 Mäuse, die als Bazillenausscheider nicht in Frage kamen, mit 10 verschiedenen Breslaustämmen nachgefüttert, und zwar: 6 Tiere 4 Wochen nach der Schottmüller-Fütterung, 4 5 Wochen darnach, 6 6 Wochen später, je 1 nach 48 und 69 Tagen. Sämtliche Mäuse — 1 Tier ausgenommen — gingen ein nach 3, 4, **7**, 8, 9, 9, 9, 9, 9, 9, 10, 12, 13, 13, 14, 18, **19** Tagen[1]), in der Leber von 12 Tieren wurden histologisch (Herr Prof. Dr. Busch) leukozytäre Reaktion und Nekrosen nachgewiesen oder es fanden sich makroskopisch die bezeichnenden Veränderungen.

---

1) **Fettdruck** = kein Bazillenbefund im Blut oder Organen.

Niemals konnten Schottmüller-Keime gefunden werden, stets war nur Bac. ent. Breslau nachweisbar, obwohl die Tiere durchweg in demselben Glas belassen wurden und abgesehen von den schweren Organveränderungen in allen Fällen eine schwere Enteritis vorhanden war. Der Schottmüllerkeim hat also kaum zu latentem Mikrobismus bei den Mäusen geführt. Die Keime wurden, obwohl sie — abgesehen von der ersten Fütterung — infolge des unterlassenen Käfigwechsels vielleicht noch öfter aufgenommen werden konnten, im Körper der Maus anscheinend vernichtet.

4. Aus diesen Versuchen geht ferner hervor, daß es nicht gelingt, durch orale Schottmüller-Gaben eine in irgendeiner Weise nachweisbare Immunität bei Mäusen gegen Breslaukeime zu erzeugen. Vielleicht wäre es möglich, durch ganz geringe Breslau-Gaben einen Unterschied zu finden.

5. Da noch nicht mit Sicherheit ein Schottmüller-Stamm beim Tier gefunden wurde, habe ich weitere 25 Mäuse, die nur mit Schottmüller gefüttert waren, getötet und eingehend bakteriologisch untersucht, um die Frage zu beantworten, wo und ob sich die Keime im Körper der weißen Maus längere Zeit halten könnten.

5 Tiere wurden 5 Wochen nach der Fütterung, 1 6 Wochen später, 1 7 Wochen darauf, 2 in der 8. Woche und 9 in der 9. Woche darnach, 4 10 Wochen nach der Keimaufnahme und je eine 12, 14 und 36 Wochen nach der Fütterung getötet. (Leichter Schlag in den Nacken.)

Bei derartigen Versuchen müssen zur bakteriologischen Untersuchung möglichst große Organmengen verarbeitet werden. Die primäre Aussaat auf Nährböden kann stets nur bei reichlicher Anwesenheit der Keime zu einem Erfolg führen, spärliche Keime, auf die es ebenso ankommt, werden fast durchweg nur in Nährflüssigkeiten mit elektiven Eigenschaften angereichert. Es wurden deshalb von jedem Tier möglichst steril Leber und Galle (ca. 1,5 g) die ganze gequetschte Milz, öfters eine ganze Niere und das ganze Herz und stets 10 cm Dünndarm mit einem Stück Blinddarm in je 10 ccm Brillantgrünbrühe angereichert, zur weiteren Auswahl bisweilen nochmals die Malachitgrünplatte zwischengeschaltet und endlich auf einer oder zwei Lackmusmilchzuckeragarplatten (12 cm Durchm.) mit Kristallviolett ausgesät.

Bei 23 Tieren wurden Schottmüller- (natürlich auch Breslau-)Keime nicht gefunden. Die Organaussaaten waren fast stets steril.

Bei einer Maus wurden 5 Wochen nach der Fütterung nur in der Milz Schottmüller-Keime gefunden, desgleichen bei einer Maus nach 6 Wochen nur im Darm. Da auch nach 6 Wochen 3 Tiere, davon 2 mit Befund der Keime in den Organen, noch eingingen, kann es sich hier um eine noch manifeste schleichende Infektion gehandelt haben, oder es können sich tatsächlich die Keime solange als Saprophyten im Körper halten und zu Rezidiven Anlaß geben. Dafür spricht folgender Fall:

Eine Maus ging nach 9 Wochen an Lungenentzündung zugrunde. Im Darm, in der Milz, der Leber und der Galle, auch im Herzblut fanden sich die Keime, während histologisch die Leber einen normalen Befund zeigte.

Wir müssen hier annehmen, daß bei der zur Trägerin gewordenen Maus die Keime infolge der Lungeninfektion den ganzen Körper überschwemmen konnten. Denkbar wäre natürlich, daß die nur einmal in ein neues Glas umgesetzte Maus zur Zeit der Lungenerkrankung die Keime aufgenommen hätte. Sie wären möglicherweise alimentär ausgeschieden worden, die Durchlässigkeit des Darms infolge der Sepsis hätte dann zur Einwanderung in den Körper führen können.

II. Mit **Breslaustämmen** wurden 108 Mäuseversuche angesetzt. Die Stämme waren aus Untersuchungsstoffen von 54 Kranken bzw. alimentären Ausscheidern und 3 Nahrungsmittelproben gewonnen.

Eingegangen sind 88 Tiere = 81,5 Proz., davon wurden bei 88,6 Proz., die Keime in Organen verendeter Tiere gefunden, und zwar in der 1. Woche von 33 eingegangenen Tieren bei 30, in der 2. Woche von 47 bei 41, in der 3. Woche

von 2 bei 2, in der 4. Woche von 2 bei 2, in der 5. Woche von 4 bei 3 Tieren. Diese 88 Stämme lassen sich einteilen in Stämme, die alt waren bis zu 14 Tagen (29 = r. 33 Proz.), 14—50 Tage (25 = r. 28,5 Proz.), 50—200 Tage (8 = r. 9 Proz.), 200—300 Tage (15 = r. 17 Proz.), über 300—700 Tage (11 = 12,5 Proz.).

Von den nicht eingegangenen 20 Mäusen (=18,5 Proz.) waren gefüttert mit Stämmen bis zu 14 Tagen alt 5 = 25 Proz., 14—50 Tagen 2 = 10 Proz., 200 bis 300 Tagen 1 = 5 Proz., 300—700 Tagen 12 = 60 Proz.

Wir können aus dieser Zusammenstellung entnehmen, daß der zu diagnostischen Zwecken angestellte Tierversuch mit frischen Breslaustämmen nicht ganz 15 Proz., mit alten Stämmen bis über 50 Proz. Versager haben kann.

Genau so, wie bei den Schottmüller-Infektionen die eingegangenen Tiere, haben hier die überlebenden eine besondere Bedeutung. Bei Schottmüller-Fütterung muß man nach den Ursachen des Todes, bei der Breslaufütterung nach Erklärungen für das Ueberleben fahnden. Ohne weiteres wird man bei älteren Stämmen mit Annahmen wie Virulenzabnahme auskommen können. Will man keine Möglichkeit übersehen, dann ist auch an die individuelle Disposition (Webster) zu denken. Da überdies diese Keime typische Typhuserreger bei Nagetieren sind, wäre ein durch Ueberstehen der Krankheit erworbener Schutz nicht von der Hand zu weisen. Während eine parenterale Immunisierung mit diesen Keimen nicht gelang, konnte durch Fütterung Immunität erzielt werden (Loeffler). Im Versuch habe ich alle diese Möglichkeiten aus äußeren Gründen nicht nachprüfen können.

Wie schon aus der Uebersicht der Breslaufütterungsversuche hervorgeht, blieben zur Untersuchung auf Daueransiedlung nur wenige Tiere übrig.

In der bei den Schottmüller-Versuchen geschilderten Weise habe ich 13 Mäuse auf Daueransiedlung untersucht.

Von 4 Tieren war 8 Wochen nach der Fütterung eines Bazillenträger geworden (Organe und Darm), von 5 10 Wochen nach Keimaufnahme ebenfalls ein Tier (Organe und Darm) und bei 3 Tieren konnten nach 11—13 Wochen Keime nicht mehr gefunden werden. Wenn es erlaubt ist, aus kleinen Zahlen, die allerdings den Vorzug eingehender Untersuchung haben, Annahmen über die Zahl der übrigbleibenden Träger zu machen, ergäben sich r. 16 Proz. der Ueberlebenden. Sicherlich nicht zuviel, wenn man andere Angaben berücksichtigt, z. B. die von Trautmann, daß 50 Proz. Träger nach einer Rattenepidemie übrig blieben.

3. In gleicher Weise wie mit Schottmüller- und Breslaustämmen habe ich Mäuse mit 7 mir von verschiedenen Seiten zugegangenen Gärtner-Stämmen gefüttert[1]).

Nur 2 Tiere gingen ein; eines nach 10 Tagen mit Keimbefund in Blut und Organen (auch histologisch Nekrosen), eines nach 6 Tagen mit positiven bakteriologischem Befund. Mit dem gleichen Stamm waren zur gleichen Zeit in gleicher Weise weitere 3 Mäuse gefüttert worden, ohne sichtbar zu erkranken! Nach 7 Wochen wurden sie getötet und in gleicher Weise wie die Schottmüller- und Breslaumäuse auf Trägertum untersucht. Niemals wurden die Keime gefunden. Auch 2 Tiere, die nach 10 Wochen, 3, die nach 12 Wochen und 4, die nach 16 Wochen getötet wurden, waren nicht zu Trägern geworden.

4. 15 Fütterungsversuche mit Paratyphusbazillen[2]), die vom Pferd, Rind, Kalb und Schwein stammten, ergaben:

---

1) Für Ueberlassung von Stämmen bin ich den Herren Prof. Bitter, Poppe Räbiger zu großem Dank verpflichtet.

2) Gelatineplatten Kuppenform bis Weinblattform, Wallbildung teilweise vorhanden, von älteren Schottmüller-Stämmen unterschieden sich die Keime nur durch die stets höhere Agglutination mit Gärtner-Serum, von Gärtner-Stämmen waren sie nicht zu unterscheiden und zeigten auf Gelatine die Form, wie sie schon 1903 Fischer abgebildet hatte.

• Eingegangen in der 1. Woche 5 Tiere, davon bakt. und pathol. positiv 4, in der 2. Woche 7 (6), nach 23 Tagen ging 1 Tier ein (bakt. und histol. positiv), nach 36 Tagen 1 Maus mit völlig negativem Befund und endlich nach 10 Wochen 1 Tier mit positivem bakteriologischem Befund.

5. Mit Bac. abortus equi[1]) wurden 4 Tiere gefüttert:

Eine Maus ging ohne Befund in der 1. Woche ein, 2 in der 2., von denen auch nur eine stärkste pathologische Veränderungen und pos. bakt. Befund aufwies und eine blieb am Leben. Wir sehen also, wie von 3 in gleicher Weise und am gleichen Tage gefütterten Tieren jedes in anderer Weise reagierte.

Zusammenfassung.

1) Von 104 „Paratyphuserkrankungen" erhielt ich brauchbare klinische Angaben. 53 Erkrankungen zeigten Krankheitsbilder, die auch beim Typhus vorkommen. In diesen Fällen ergab die bakteriologische Untersuchung Bact. paratyphi B Schottmüller. Bei weiteren 47 Kranken war das Bild der akuten Gastroenteritis ganz eindeutig. Die bakteriologische Untersuchung ergab Bact. enteritidis Breslau. 2 Erkrankungen mit choleraähnlichem Beginn und brechdurchfallähnlichem Verlauf (angeblich nach Rehfleischgenuß) mußten als Mischinfektionen von Bact. paratyphi B Schottmüller und Bact. enteritidis Gaertner angesprochen werden. Ebenso kann bei 3 Kranken mit Breslaubefund und typhösem Krankheitsbild, weil Typhuskranke in der nächsten Umgebung waren, den Breslaukeimen eine ursächliche Bedeutung nicht zugesprochen werden. Mein Material bestätigt somit die von der Kieler Schule vertretene Ansicht, daß das Bact. ent. Breslau die akute Gastroenteritis und das Bact. paratyphi B Schottmüller ein typhusähnliches Krankheitsbild hervorruft. — 2) Epidemiologische Angaben und Untersuchungen bei diesen Erkrankungen berühren besonders die Fragen der Dauerausscheidung, des Trägertums, der jahreszeitlichen und alimentären Ausscheidung. — 3) Die Trennung des Bact. paratyphi B Schottmüller vom Bact. ent. Breslau wurde durchgeführt a) mit Hilfe des Wallbildungsphänomens. Das Bact. paratyphi B Schottmüller wächst auf Gelatine in Kuppenform mit bezeichnender flammenförmiger Zeichnung, dem entspricht auf Agar die Wallbildung. Bact. ent. Breslau zeigt dagegen auf Gelatine Weinblattform und auf Agar „korallenförmige Ansiedlungen". Alte Schottmüller-Stämme können auf Gelatine Weinblattformen abspalten, denen auf Agar wallose Kolonien entsprechen. b) Je 60 Schottmüller- und Breslaustämme wurden mit spez. Schottmüller-, Gärtner- und Breslausera im einfachen Agglutinationsversuch ausgewertet. Es ließ sich für Breslau, und zwar in 92 Proz. ein zur Artdiagnose verwertbares Ergebnis buchen. c) Die Differentialdiagnose durch den Mäusefütterungsversuch

1) Der Bac. abortus equi ist kaum mit Schottmüller oder Breslau zu verwechseln. Auf Gelatineplatten werden die feuchten kuppenförmigen Kolonien nach einiger Zeit trocken und falten sich fächerförmig. Neben den Kuppenformen traten bei der 1. Aussaat (ältere Kultur!) Weinblattformen auf.

hatte bei frischen Breslaustämmen 15 Proz. Versager. Andererseits verendeten von 96 mit Bact. Schottmüller gefütterten Tieren 23. Bei diesen Tieren war eine besondere Disposition für den tödlichen Ausgang der Infektion in 14 Fällen nachweisbar (Kälte, anderweitige Mischinfektion oder überstandene gleichartige Infektion, hohes Alter). Auffallenderweise waren weitere 7 Mäuse darunter, die mit Stämmen vom Körper weg gefüttert waren. Die an Schottmüller-Infektion eingegangenen Mäuse zeigten die gleichen pathologisch-anatomischen Veränderungen, wie die nach Breslaufütterung verendeten. — 4) Es gelang ferner, nach Mischfütterung Schottmüller-Breslau beide Arten aus dem Körper wiederzugewinnen. — 5) Es gelang nicht, a) durch einmalige Schottmüller-Fütterung eine Immunität gegen Breslaukeime bei Fütterung zu erzeugen, b) bei Mäusen, die mit Schottmüller vor mindestens 4 Wochen gefüttert waren, bei Nachfütterung mit Breslaukeimen Schottmüller neben den Breslaukeimen zu finden. — 6) Von 26 mit Schottmüller-Keimen gefütterten Mäusen waren bei 23 nach Tötung (frühestens nach Ablauf von 5 Wochen) Schottmüller-Keime im Körper nicht nachweisbar. Bei 3 Mäusen fanden sich die Keime unter den geschilderten Umständen. In der gleichen Weise wurden 13 Mäuse auf Daueransiedlung von Breslaukeimen untersucht, 2 Tiere waren zu Trägern geworden (Organe und Darm). — 7) Weitere Tierversuche mit anderen Angehörigen der Paratyphusgruppe werden aufgeführt. — 8) Die Differentialdiagnose menschlicher und tierischer Paratyphusstämme nach dem Verfahren von Th. und D. Smith ist vorläufig noch zu unsicher. — 9) Die Züchtung der Paratyphuskeime wurde bei 1000 Untersuchungen, darunter 689 Stuhl- und 311 Urinproben, gleichzeitig mit dem Malachitgrünverfahren nach Lentz, Tietz und O. Mayer und dem Brillantgrünverfahren nach Killian durchgeführt. Dem Malachitgrünverfahren sind 19, dem Brillantgrünverfahren 24 Stämme entgangen. Beide Verfahren, gleichzeitig angewandt, lieferten nur 1 Versager.

Schriftennachweis.

Barnewitz, H. J., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 102. S. 164. — Bitter L., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. S. 110; Bd. 88. S. 435; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 90. S. 398; Bd. 100. S. 347. — Bonhoff, H., Arch. f. Hyg. Bd. 50. S. 222. — Bruns, H., u. Gasters, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 90. S. 263. — Bumke, Ebenda. Bd. 105. S. 342. — Conradi, H., Drigalski, W. u. Jürgens, G., Ebenda. Bd. 42. S. 141. — Fischer, B., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. S. 447. — Foth, Deutsch. med. Wochenschr. 1924. S. 648. — Gärtner, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. S. 486. — Gäthgens, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh. Amt. 1907. S. 203. — Glaser, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 67. — Grätz, (Pers. Mitteilung). — Hage, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. S. 83. — Heim, L., Lehrb. d. Bakt. 6. u. 7. Aufl. Stuttgart (Enke) 1922; Münch. med. Wochenschr. 1919. S. 1399. — Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen. Jena (G. Fischer) 1910. — Jency A. v., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 100. S. 47. — Junghanns, E., Inaug. Diss. Kiel 1918. — Kauffmann, F., Ebenda. Bd. 102. S. 68. — Kathe, Deutsch. med. Wochenschr. 1924. S. 1233. — Killian, H., Ebenda. Bd. 103. S. 193. — Kisskalt, K., Deutsch. med. Wochenschr. 1915. S. 579. — Knorr, M., 1. Münch.

med. Wochenschr. 1919. S. 961; 2. Centralbl. f. d. ges. Hyg. Bd. 7. S. 161; 3. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. S. 597; 4. Bd. 93. S. 122. — Kuppelmayr, Arb. a. d. Reichsgesundh. Amt. Bd. 55. S. 289. — Komma, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. S. 1. — Lentz, O., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 103. S. 321. — Loeffler, Gedenkschrift für Leuthold. Bd. 1. 1906. — Manninger, R., Med. Klin. 1924. S. 1409. — Mayer, O., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. — Minkowski, Deutsch. med. Wochenschr. 1924. S. 1233. — Mühlens, Dahm und Fürst, Th., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. — Müller, M., Berl. tierärztl. Wochenschr. 1909. H. 13. — Neufeld, Klin. Wochenschr. 1924. S. 1344. — Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. S. 147; Deutsch. med. Wochenschr. 1910. S. 2387; Münch. med. Wochenschr. 1914. S. 471. — Poppe, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S. 311. — Raebiger, H., u. Bahr, L., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 95. S. 442. — Rimpau, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh. Amt. Bd. 30. S. 330; Münch. med. Wochenschr. 1917. S. 997. — Rommeler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. S. 501. — Rother, Ebenda. Bd. 94. S. 77. — Savage, W. G., u. White, P. B., Journ. of Hyg. Bd. 21. S. 258. — Schiff, F., Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 33. S. 511. — Schittenhelm, A., Münch. med. Wochenschr. 1920. S. 1309. — Seligmann, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S. 288. — Smith, Th., u. Smith, D., Journ. of gen. Phys. Bd. 3. S. 1. — Sobernheim, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. S. 172. — Standfuß, R., Bakteriologische Fleischbeschau. Berlin (R. Schötz) 1922. — Uhlenhuth, P., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. S. 186; u. Hübener, E. Kolle-Wassermann. Bd. 3. S. 1005. — Willführ u. Wendtland, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 94. S. 192. — Wreschner, Ebenda Bd. 93. S. 35. — Webster, L., Journ. of. exp. Med. Vol. 37. p. 231. — Wobith, H., Inaug. Diss. Kiel 1924. — Weigmann, Fr., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. S. 396.

Zur Biologie des Tuberkelbazillus.

[Aus dem Laboratorium der Therapeutischen Fakultätsklinik der staatl. Universität Kasan (Direktor: Prof. M. N. Tschebokssarow).]

Von Dr. **B. L. Masur.**

Mit 1 Abbildung im Text.

I.

Schon lange vor der Entdeckung des Tuberkuloseerregers wandten die Botaniker[1]) eine doppelte Färbung an; sie färbten ihre Präparate mit einer alkalischen oder alkoholischen Methylenblaulösung und sodann zweitmalig mit einer Wasser-Vesuvinlösung. Ihnen war auch die Tatsache bekannt, daß bei solcher doppelten Färbung zuweilen einige Teile eines Präparates aus vegetabilem Parenchym die blaue Färbung einbüßen und die Farbe des Vesuvins annehmen.

Robert Koch, der diese doppelte Färbung in bezug auf alle zu jener Zeit bekannten Mikroorganismen anwandte, überzeugte sich, daß sie sämtlich bei der Nachfärbung mit Wasser-Vesuvinlösung die blaue Farbe verlieren und die Färbung des Vesuvins erhalten.

Indem er in gleichem Verfahren verschiedene Produkte Tuberkulosekranker färbte, überzeugte er sich davon, daß das ganze Präparat sich vesuvinbraun färbte und auf diesem braunen Untergrunde ein Mikro-

1) Woitow, Kursus der medizinischen Bakteriologie, 1894.

organismus von stäbchenförmiger Gestalt angetroffen wurde, der seine blaue, vom Methylenblau herrührende Färbung, hartnäckig bewahrte.

Als er den Versuch machte, derartiges Material, in dem der erwähnte Mikroorganismus vorkam, Meerschweinchen einzuimpfen, und dadurch bei ihnen Tuberkulose hervorrief, andererseits aber bei der Impfung der Versuchstiere mit Produkten Tuberkulosekranker, in denen derselbe Mikroorganismus fehlte, ein negatives Resultat erhielt, kam er naturgemäß zum Schluß, zunächst vermutungsweise, daß dieser Mikroorganismus der Erreger der Tuberkulose sei.

Diese doppelte Färbung, die ihm die Möglichkeit geboten hatte, zu solch wichtigem Ergebnis zu gelangen, diente ihm weiterhin, wie bekannt, als Beweismittel für einen Punkt seiner Triade.

Nun lag ihm ob, den zweiten Punkt dieser Triade zu effektuieren — eine Reinkultur dieses Mikroorganismus zu erhalten.

Diese Aufgabe war die schwerste, denn dieser Mikroorganismus entwickelte sich nicht auf den gewohnten Nährsubstraten und ihn in Reinkultur zu gewinnen, gelang ihm erst, als er geronnenes Blutserum vom Kalbe als Nährboden verwandte. Aber auch auf diesem Substrat wird nur ein langsames und spärliches Wachstum erzielt.

In welchem Maße schwierig die Erzielung der ersten Generation nach der Methode Kochs ist, läßt sich z. B. daraus ersehen, daß noch nach 40 Jahren Zechnowizer[1]) schreibt, daß es ihm kein einziges Mal gelungen ist, nach Kochs Methode eine lebensfähige Tuberkulosekultur zu erhalten, und er erblickt die Ursache des Mißlingens im „Nichtbesitz der nötigen Technik“.

Nach der berühmten Mitteilung Kochs im Jahre 1882 wurden an vielen Orten nach seiner Methode Reinkulturen des Tuberkuloseerregers erzielt.

Roux[2]) tat den Ausspruch, daß der gen. Erreger auf Agar wachsen müsse. Alle seine Versuche in dieser Richtung endeten mit einem Mißlingen. Beim Nachdenken über die Ursache der Fehlschläge verfiel er auf die Vermutung, daß die Stäbchen sich darum nicht entwickelten, weil Agar infolge langen Stehens im Thermostat wegen des langsamen Wachstums des Erregers zu sehr austrockne und daher zum Nährsubstrat untauglich werde. Um diesem Austrocknen vorzubeugen, entschied er sich, zu Agar einen hygroskopischen Stoff zu fügen, und tat Glyzerin hinzu. Unerwartet wurde das Wachstum ein schnelles und reichliches. Seit dieser Zeit ist die Hinzufügung von Glyzerin conditio sine qua non für die Züchtung von Tuberkelbazillen. Die Zugabe von Glyzerin ermöglichte Züchtung von Tuberkelbazillen auf den verschiedenartigsten Nährsubstraten[3]): Agar, Bouillon, flüssiger Gelatine, der Kartoffel, Mohrrübe, Rübe, Kohlrübe, dem Rettich, Dekokt von Bierhefen, Maccaroni, mineralischen Substraten usw. Dank der Zugabe von Glyzerin gelang es einigen Autoren, in 50 Proz. der Fälle auf Agar die erste Generation sofort zu erzielen.

Deycke[4]) zweifelt überhaupt an der Möglichkeit der Züchtung von Tuberkelbazillen auf Substraten ohne Glyzerin und schreibt, „daß

---

1) Zechnowizer, Zur Frage über die Gewinnung der ersten Generationen der Tuberkelbazillen. Sammlung v. Aufsätzen aus der Mikrobiologie, dem Andenken Schatilows gewidmet. 1922.

2) Woitow, Kursus der medizinischen Bakteriologie.

3) Steriopulo, Ueber die Tuberkelbazillen etc. (Dissertation 1908.)

4) Deycke, Praktisches Lehrbuch der Tuberkulose. 1923.

gemäß der bisher erhaltenen Resultate die Mitteilungen über das Wachstum der Tuberkelbazillen auf Nährsubstraten, die des Glyzerins entbehren, mit Vorsicht aufzunehmen sind. Denn es unterliegt keinem Zweifel, daß das starke Glyzerinbedürfnis mit dem reichlichen Gehalt an Fett, besonders neutralem Fett, d. h. Fettsäurenglyzeride in den Tuberkelbazillen in Zusammenhang steht".

Infolge dieser Klarstellung der Ursache für die Unentbehrlichkeit des Glyzerins durch eine Fachautorität wie Deycke ist die Frage der Züchtung der Tuberkulosestäbchen auf glyzerinfreien Substraten nicht mehr nur eine Frage, die dank menschlicher Beharrlichkeit ihr Dasein fristet, sondern sie besitzt eine gewisse raison d'être. Wie bekannt, wollen Einige die Ursache für die Erfolglosigkeit in der Anwendung der Tuberkulosestäbchen zu Immunisierungszwecken in der Säurefestigkeit der Stäbchen erblicken. Da jedenfalls, welcher Art sonst auch die wahre Ursache der Säurefestigkeit sein möge, dem Reichtum an Fett eine gewisse Rolle hierbei zugeschrieben wird, so erscheint der Wunsch ganz natürlich, Tuberkelbazillen auf Substraten mit minimaler Möglichkeit der Fettproduktion, d. i. auf Substraten ohne Glyzerin zu züchten. Solche Versuche wurden von vielen angestellt, aber nicht immer mit Erfolg. So bemerkt Janowsky[1]) auf Grund der Arbeiten von Armand-Delille, Mayer, Schäffer und Terroine, daß „Glyzerin unbedingt notwendig ist, wenn sein Gehalt auch vielleicht im Ganzen nur 0,8 Proz. beträgt".

Einige Autoren erzielten ein positives Resultat. So erhielt Robert Koch[2]) auf neutraler Bouillon ohne Glyzerin eine Kultur in Gestalt eines Niederschlages auf dem Boden des Kolbens unter Einhaltung gewisser Versuchsbedingungen (Dicke der Flüssigkeitsschicht nicht über 1 cm und häufiges Schütteln des Substrats). Die homogene Kultur Ferrans (1897) entwickelte sich gleichfalls auf gewöhnlicher Bouillon. In allerneuester Zeit berichten Ljubarsky und Togunowa[3]) über erfolgreiche Züchtung von Tuberkelbazillen auf gewöhnlicher Bouillon.

Uns gelang es, eine Tuberkelbazillenkultur zu erhalten, die sich auf gewöhnlicher Bouillon mit Erfolg entwickelte und in engem Zusammenhang mit der Bearbeitung einer anderen Frage stand, deren Wesen sich in Folgendem wiedergeben läßt.

Bekanntlich werden, wenn man eine Emulsion aus Tuberkelstäbchen mit einer Emulsion aus Leukozyten vermischt oder aber solche Emulsion aus Tuberkelbazillen ins Blut injiziert, die Mikroben von den Polynuclearen schnell ergriffen. Aber die Mikroben kommen in ihnen nicht um, sondern bleiben an den Stellen, wo die Leukozyten sich setzen (vorzugsweise an den lymphatischen Spalten der Lunge) stecken und beginnen sich zu vermehren, wobei der Polynuclear zugrunde geht, so daß von ihm nichts übrig bleibt.

Warum geht der Polynuclear zugrunde? Wahrscheinlich infolge der verderblichen Einwirkung des Endotoxins oder des Toxins des Tuberkelstäbchens. Von ersterem kann jedoch hier keine Rede sein, da die Endotoxine Substanzen sind, die erst nach dem Zerfall und Untergang der Bakterien frei werden, wir sehen aber, daß die Stäbchen intakt und zu weiterer Vermehrung fähig bleiben. Folglich kann hier nur von

1) Janowsky, F. G., Die Lungentuberkulose. 1923.
2) Steriopulo, Dissertation.
3) Ljubarsky u. Togunowa, Untersuchung der Tuberkelbazillen im Gebiet der Biologie. (Thesen d. Kongresses f. Tuberkulose. 1923.)

irgend einem Toxin die Rede sein. Wir stellten uns als Ziel hin, zu versuchen, eine Tuberkelbazillenkultur zu erlangen, in der dieser Giftstoff vernichtet oder doch auf ein Minimum reduziert wäre.

Da die protoplasmatischen Gifte (Karbolsäure, Chloroform) auf die Toxine überhaupt wenig Einfluß ausüben und letztere dagegen gegen Alkohol sehr empfindlich sind („Alkohol ist sehr schädlich ..") [1]), so beschlossen wir, zu versuchen, ob es nicht gelingen werde, eine Tuberkelbazillenkultur auf einem Substrat ohne Glyzerin, jedoch mit Ersatz desselben durch Aethylalkohol zu züchten, um uns davon zu überzeugen, welche Eigenschaften diese Kultur aufweisen würde.

Ein derartiger Ersatz darf nicht verwunderlich erscheinen, da in der Tabelle der Kohlenstoffverbindungen, die nutritive Eigenschaften besitzen (Nägeli), Aethylalkohol nicht an letzter Stelle steht, anderseits aber sicher feststeht, daß Glyzerin als Quelle der Kohlensäure keine spezifische Materie für die Tuberkelbazillen vorstellt und überhaupt durch anderes ersetzt werden kann (Glykose, Saccharose, Laktose, Glykogen, Dextrin).

Wir beschickten 5 Kolben mit verschiedenem Gehalt an Glyzerin und Alkohol nach folgendem Schema:

A.	47½ ccm Bouillon	+ 2,0 Glyzerin	+ 0,75 ccm Aethylalkohol (95 Proz.)
B.	47 „ „	+ 1,5 „	+ 1,5 „ „
C.	46,75 „ „	+ 1,0 „	+ 2,25 „ „
D.	46,5 „ „	+ 0,5 „	+ 3,0 „ „
E.	47 „ „	+ — „	+ 3,0 „ „

und machten Ueberimpfungen aus einem Kolben in den anderen, von Oberfläche auf Oberfläche des Substrates. Zwischen D und E mußten noch einige Zwischenglieder eingeschaltet werden; und zuweilen war eine Impfung auf Bouillon ein und derselben Mischung 2—3mal notwendig. Zu Ende des Jahres erhielten wir Wachstum noch auf E. Die Monatskultur hatte das Aussehen eines sehr dünnen und lockeren Häutchens. Wenn man die Ueberimpfung aus E auf gewöhnliche Bouillon oder Agar macht, so ist auch hier ein Wachstum wahrzunehmen, anfangs spärlich, bei nachfolgenden Ueberimpfungen schneller und reichlicher. Die Stäbchen bewahren ihre Säurefestigkeit und äußere Gestalt.

II.

Bekanntlich entwickeln sich die Tuberkelbazillen nicht nur auf Nährsubstraten animalischen und vegetativen Ursprungs, sondern auch auf mineralischen Substraten. Seinerzeit wurden sie von Uschinski, Fraenkel, Koch, Proskauer und Beck u. a. in Vorschlag gebracht. Wenn es, wie wir gesehen haben, in einzelnen Fällen gelungen ist, ein Wachstum der Tuberkelbazillen auf nicht mineralischen Nährsubstraten auch ohne Zugabe von Glyzerin zu erzielen, so ist es bisher noch niemandem geglückt, auf mineralischem Substrat ohne Glyzerin solches Wachstum zu erhalten. Zu den Bestandteilen dieser Substrate gehört daher unvermeidlich auch Glyzerin.

Das Substrat von Proskauer und Beck hat zum Beispiel nachstehende Zusammensetzung:

1) Loewit, M., Infektion und Immunität. 1921.

Kohlensaures Ammonium	0,35
Phosphorsaures Kali	0,15
Schwefelsaures Magnesium	0,2
Glyzerin	1,5
Wasser	100,0

Aus der Zusammensetzung dieses Substrates ist zu ersehen, daß Kohlenstoff vom Tuberkelbazillus dem Glyzerin und auch noch dem kohlensauren Ammonium entlehnt werden kann.

Wir modifizierten ein wenig die Zusammensetzung dieses Substrats, indem wir das kohlensaure Ammonium durch Chlorammonium ersetzten und auf Grund einiger Erwägungen die Menge des phosphorsauren Kalis vergrößerten[1]).

Das Substrat hat dann folgende Zusammensetzung:

Chlorammonium	0,35
Phosphorsaures Kali	0,05
Schwefelsaures Magnesium	0.02
Glyzerin	1,5—3,0
Aq. destill.	100,0

Auf diesem Substrat erhielten wir häufig reichliche Kulturen der Tuberkelbazillen. Die Bereitung dieses Substrats ist sehr einfach: alle Bestandteile werden bei Zimmertemperatur aufgelöst, darauf wird das Substrat in Probiergläser und Kolben gefüllt und im Autoklaven bei 120° 15—20 Minuten lang sterilisiert. Das Substrat bleibt dabei durchsichtig und rein.

Prüfen wir die Bestandteile dieses Substrats, so sehen wir, daß hier als einziger organischer Stoff, als einzige Quelle des Kohlenstoffs das Glyzerin auftritt. Ohne Glyzerin ist auf diesem Substrat kein Wachstum zu erzielen.

Augenscheinlich schöpft der Stamm von Tuberkelbazillen, den wir auf gewöhnlicher Bouillon ohne Glyzerin zum Wachstum brachten, den Kohlenstoff für seinen Aufbau aus den organischen Stoffen der Bouillon selbst. Daraus entstand für uns die Frage, ob dieser Stamm auf dem erwähnten mineralischen Substrat (bezeichnen wir es der Kürze halber mit dem Buchstaben „K"), dem anstatt des Glyzerins Bouillon beigefügt wird — als Quelle für Kohlenstoffverbindungen — wachsen würde? Die Antwort lautet, wie sich herausstellt, bejahend. Wir fügten zum Substrat „K"-Bouillon in einer Menge von 50 Proz., darauf 40 Proz., 30 Proz., 10 Proz., 8 Proz., 6 Proz., 4 Proz., 3 Proz., 2 Proz., 1,5 Proz., 1 Proz., 0,9 Proz., 0,8 Proz., 0,7 Proz., 0,6 Proz. 0,5 Proz., 0,4 Proz., 0,3 Proz. usw. Auf jeder Lösung züchteten wir gewöhnlich 5—10 Generationen. Schließlich konnten wir ein Wachstum auf dem Substrat „K" mit 0 Proz. Bouillongehalt erzielen. Das Wachstum geht sowohl auf dem Grunde als auch auf der Oberfläche des Substrates vor sich (abhängig von der Aussaatmethode). Im ersteren Falle ist beim Rollen des Probierglases zwischen den Handflächen zu sehen, wie vom Boden ein weißer Niederschlag in der Art wie Sand schraubenförmig emporsteigt. Im zweiten Falle haben wir auf der Oberfläche des Substrats ein feines Häutchen in der Art eines Cholesterinanfluges, das sich an der Wand des Probierglases weit hinaufzieht.

Wir haben unter gleichen Bedingungen auch eine Kultur des Unterleibstyphus gezüchtet. Hier liegen die Verhältnisse günstiger. Der

---

1) Radsimowskaja, W., Ueber den Einfluß der Wasserstoffionen auf das Leben der Zellen .1924.

Typhusbazillus wächst überhaupt auf gewöhnlicher Bouillon und entwickelt sich schnell (in 24 Stunden). Wir wandten dieselbe Lösungsmethode und Anzahl der Ueberimpfungen an, wie beim Tuberkelstäbchen. Wachstum in Gestalt durchgängiger Trübung des Substrats. Anfangs wurden viele Involutionsformen erhalten: lange Fäden, die sich verzweigen, Stäbchen, die starke bipolare Anlage des Protoplasmas bei Färbung mit Fuchsin offenbaren usw. Weiterhin verschwinden die Involutionsformen nach Maßgabe ihrer Gewöhnung an das Substrat fast ganz. Auf einigen Lösungen mußte eine größere Anzahl von Ueberimpfungen gemacht werden, da zuweilen nach 10 Generationen die Kultur sich auf schwächeren Lösungen nicht entwickelte. Wir gingen im Substrat „K“ bis zu 0,25 Proz. Bouillongehalt herab. Leider starb der Stamm während der Ferien ab. Unter anderem ist hier ein Detail im Auge zu behalten. Wenn wir bis zu 2 Proz.—1 Proz. Bouillongehalt im Substrat „K“ gelangen, wird letzteres 24—48 Std. nach der Impfung steril-durchsichtig. Doch dieser Vorgang ist nur ein scheinbarer. Man braucht nur hinter das Probierglas eine elektrische Lampe zu stellen und das Probierglas zu schütteln, um wahrzunehmen, wie die kompakte Trübung in der Art eines Wölkchens sich teilt.

Somit erhellt aus dem Dargelegten, daß es uns gelungen ist, eine vollständig lebensfähige Tuberkelbazillenkultur zu erhalten (bis zum gegenwärtigen Augenblick haben wir im Laufe von 8 Monaten 16 Generationen erzielen können), die sich auf kohlenstofffreiem Substrat entwickelte. Es erhebt sich die Frage: woher nehmen die Tuberkelstäbchen den Kohlenstoff zu ihrem Aufbau? Die einzige Antwort: aus der Kohlensäure der Luft. Aber um die Richtigkeit dieser Annahme zu erhärten, muß noch bewiesen werden, — wie uns der Direktor des Bakteriologischen Instituts, Prof. Aristowski, mit Recht bemerkte — daß bei Abwesenhei von Kohlensäure in der Luft die Kultur sich nicht entwickeln würde, was zugleich zum Beweis dafür dienen dürfte, daß in den zur Anwendung kommenden mineralischen Stoffen keine Spuren organischer Stoffe, die zum Leben und Vermehren der Tuberkelstäbchen genügten, vorhanden seien.

Der Versuch wurde folgendermaßen angestellt (Fig. 1): 3 Waschflaschen A, B und C, zur Hälfte mit 30proz. Aetzkalilösung gefüllt, sind mittels einer Gummiröhre *a*, die mit einem Klemmer *b* versehen ist, mit der Glasröhre *C* verbunden, welch letztere durch den Gummipfropfen *d* des *3* Liter fassenden Kolbens *D* geht. Durch denselben Pfropfen läuft eine Glasröhre *e*, die durch eine mit dem Klemmer *g* versehene Gummiröhre *f* mit der Glasröhre *h* verbunden ist, die durch den Propfen der 10 Liter fassenden Flasche *E* geht. Der Kolben *D* ist ganz mit Wasser gefüllt, die Flasche *E* zu drei Vierteln. Die rechtwinklig gebogene Röhre *K*, vorläufig mit Wasser angefüllt und durch den Klemmer *l* verschließbar, dient als Syphon. Bei Oeffnung des Verschlusses *l* läuft das Wasser langsam aus der Flasche *E* durch die Röhre *K* und an seiner statt wird Wasser aus dem Kolben *D* in die Flasche gehoben. An Stelle des aus dem Kolben *D* fließenden Wassers tritt in diesen Luft ein, die zuvor die Waschflaschen passiert. Wenn das Wasser aus dem Kolben zur Hälfte ausgeströmt ist, schließen wir den Klemmer *l*, womit wir den Syphon außer Tätigkeit setzen. Darauf nehmen wir aus dem Kolben *D* den Gummipfropfen und versenken in ihn 2 Probiergläser an Fäden: ein Glas mit Substrat „*K*“ samt Impfungen und ein zweites mit klarem Kalkwasser. Nun verschließen wir den Kolben mit dem Pfropfen und öffnen wieder den Klemmer *l*. Das Wasser aus dem Kolben *D* tritt langsam in die Flasche *E* über. Nachdem alles Wasser aus dem Kolben *D* ausgeflossen ist, wird an Stelle des aus der Flasche *E* fließenden Wassers in letztere aus dem Kolben *D* Luft eingesaugt, die ihrerseits wieder durch Luft, die durch die Waschflaschen A, B und C geht, ersetzt wird.

---

1) Palladin, W. I., Einfluß des Lichtes auf die Pflanzen. (Aus der Physiotherapie P. G. Mesernitzkys, 1915.)

Der Pfropfen *d* des Kolbens *D* und die Oeffnungen in ihm, durch die die Röhren *c* und *e* gehen, werden mit Paraffin vergossen. Nachdem fast alles Wasser aus der Flasche *E* geflossen ist, werden die Klemmer *b* und *g* geschlossen und die Gummiröhren von den Röhren *x* und *h* gelöst.

Der Kolben wird in den Thermostaten gestellt. Durch die Wand des Kolbens ist zu sehen, daß das Kalkwasser sich nicht trübt, was davon zeugt, daß die Luft im Kolben keine Kohlensäure enthält. Ein Kontrollprobiergläschen mit Impfung

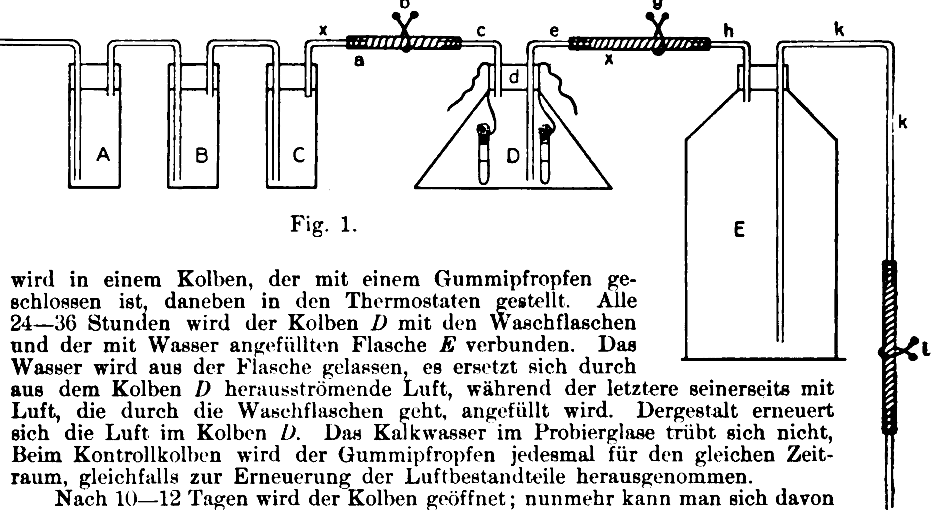


Fig. 1.

wird in einem Kolben, der mit einem Gummipfropfen geschlossen ist, daneben in den Thermostaten gestellt. Alle 24—36 Stunden wird der Kolben *D* mit den Waschflaschen und der mit Wasser angefüllten Flasche *E* verbunden. Das Wasser wird aus der Flasche gelassen, es ersetzt sich durch aus dem Kolben *D* herausströmende Luft, während der letztere seinerseits mit Luft, die durch die Waschflaschen geht, angefüllt wird. Dergestalt erneuert sich die Luft im Kolben *D*. Das Kalkwasser im Probierglase trübt sich nicht, Beim Kontrollkolben wird der Gummipfropfen jedesmal für den gleichen Zeitraum, gleichfalls zur Erneuerung der Luftbestandteile herausgenommen.

Nach 10—12 Tagen wird der Kolben geöffnet; nunmehr kann man sich davon überzeugen, daß während im Kontrollprobiergläschen die Oberfläche des Substrats mit einem dünnen Häutchen in der Art eines Cholesterinüberzuges, das an der Wand des Probierglases emporsteigt, bedeckt ist, im Versuchsprobierglase auf der Oberfläche kein Wachstum vorhanden ist (unter der Bedingung der Impfung des Substrats an der Oberfläche). Im Kalkwasser bildet sich auf der Oberfläche zuweilen ein dünner weißer Ueberzug, das Wasser selbst ist durchweg klar. Beim Schütteln an der Luft wird es trübe. Unter dem Mikroskop sehen wir am Ausstrich von Häutchen, daß wir es mit einer Reinkultur von säurefesten Stäbchen zu tun haben.

Aus diesen Versuchen erhellt, daß unsere Kultur der Tuberkelstäbchen sich Kohlenstoff aus der Kohlensäure der Luft aneignet.

Jedoch infolge einer solchen Antwort auf unsere oben gestellte Frage wird der Eindruck hervorgerufen, daß hier ein biologisches Grundgesetz verletzt worden ist — das Gesetz der Erhaltung der Energie; es entsteht nämlich die Frage, aus welcher Quelle die Tuberkelbazillen die für die Dissoziation von CO_2 notwendige Energie erhalten. Für Pflanzen im Freien dient als solche Quelle die Sonne oder genauer die Wärme vom absorbierten Licht, aber unsere Kultur entwickelt sich ja im Dunkel, folglich existiert diese Quelle für sie nicht.

Um jene Frage zu beantworten, muß man folgendes im Auge haben: der organische Stoff wird durch zwei Eigenschaften charakterisiert: Vorhandensein von Kohlenstoff und Brennfähigkeit. Aber es gibt mineralische Stoffe, die die Fähigkeit zu brennen, d. i. die freie Wärme frei zu machen, besitzen, ohne doch Kohlenstoff zu enthalten. Zu solchen Stoffen gehört Ammoniak, Schwefelwasserstoff u. a. In unserem Substrat „K“ ist gerade auch Ammoniak enthalten. Wahrscheinlich dient dieses auch als solche Energiequelle.

Somit kommen wir auf Grund unserer Versuche zum Schluß, daß unter gewissen Bedingungen die Tuberkelbazillen den Kohlenstoff unmittelbar der Kohlensäure der Luft entlehnen können.

Nachdruck verboten.

Zur Serotherapie des Milzbrandes[1]).

[Aus dem Laboratorium der Klinik für Infektionskrankheiten der Krimschen Universität (Professor A. Dwushilnyï).]

Von Dr. S. S. Sabolotnyï (Simferopol).

Mit 4 Kurven im Text.

Das zum 1. Male 1895 von Marchoux und Sclavo gewonnene und nachher experimentell viel ausprobierte Milzbrandserum (Sobernheim und Schavo) wurde mit großem Erfolge in der Veterinärpraktik sowohl zu prophylaktischen (zusammen mit Vakzine) als zu therapeutischen Zwecken angewendet. Seine Anwendung beim Menschen aber ist im allgemeinen sehr zurückgeblieben, besonders in Rußland, wo die ersten Literaturangaben in den Jahren 1923—24 [Sspassky (1), Kuschewa (2), Skrotzky (3)] erschienen. Wir halten es darum nicht für überflüssig, über unsere 35 Milzbrandkranke in den Jahren 1921—1925, welchen (7 Kranke ausgenommen) neben der symptomatischen Behandlung (Cardiaca, Eingießen von physiologischer Kochsalzlösung; örtlich: trockene Bände, Kompresse) spezifisches Serum eingespritzt wurde, zu berichten.

Die bakteriologische Diagnose Pustula maligna wurde bei allen diesen Kranken durch die Untersuchung des Pustelinhalts durch Ausstriche[2]) und auch durch Aussaaten und Versuche an Tieren festgestellt. Außerdem wurde in den meisten Fällen auch das Blut (3 bis 4 ccm) der Kranken mittels Aussaaten in Agar auf 2 Petri-Schalen und manchmal auch durch Verimpfung auf Tiere untersucht.

Da sich prognostisch die Fälle des generalisierten Milzbrandes sehr scharf von denen mit ausschließlich örtlichem Prozesse unterscheiden, haben wir unser Material in 2 Gruppen geteilt: Gruppe A, mit nur örtlichem Prozesse 27 Kranke (hierher rechnen wir auch die klinisch schwereren Fälle, bei welchen aus irgendwelchen Ursachen Blutaussaat nicht ausgeführt wurde), und Gruppe B, mit Milzbrandbakteriämie, 8 Kranke, zu welchen wir auch 2 Fälle rechnen, wo das Blut beim Lebenden nicht untersucht und die Bakteriämie erst bei der Sektion festgestellt wurde.

Die Zweckmäßigkeit einer solchen Einteilung geht aus folgendem hervor: Als im Jahre 1899 die 1. Mitteilung über die erfolgreiche Wirkung des Milzbrandserums gemacht wurde, erklärte Prof. Foà, daß man von der Spezifizität des Serum nur dann sprechen könne, wenn es sich wenigstens um einen Fall der Genesung beim generalisierten Prozesse handelt, welcher immer zum Tode führt. Ein solcher Fall wurde

1) Vorläufige Mitteilung am 8. 3. 1922 in der Sitzung der medizinischen Assoziation der Krimschen Universität und am 22. 11. 1923 auf der Aerztekonferenz im 1. Stadtkrankenhaus.

2) In den Ausstrichen hatten manchmal die Milzbrandstäbchen nicht ihre typische Form (gerundete Ränder, Fehlen der Kapsel — freilich bei gewöhnlicher Färbung nach Loeffler, Pfeiffer und Gram). In 3 Fällen, Kranke R—d (s. Nr. 1) mit inbegriffen, fanden sich außerdem die Bazillen im Zustande der Phagozytose, welche aber in keinem Zusammenhang mit der Schwere des Falles stand.

kurz darauf von Baduel und Doddi (4) aus der Klinik von Prof. Grocco vorgeführt. Dann beobachtete Becker (5) in 12 Fällen mit Bakteriämie (bei der Aufnahme) Genesung nur in 2 Fällen, wo Serum (1 Fall) oder Salvarsan (1 Fall) angewendet wurden, wogegen in 32 Fällen mit nur örtlichem Prozesse (beim Eintreten ins Krankenhaus) der Tod nur in einem einzigen Falle eintrat, doch hatte es sich auch hier, wie später festgestellt wurde, um eine Generalisation des Prozesses gehandelt.

Gruppe A, 27 Kranke: Alle Fälle endeten mit Genesung; freilich wurde das Serum in 3 Fällen nicht gebraucht. Es handelte sich aber um die leichtesten Fälle, welche den übrigen 24 Fällen nicht gleichgestellt werden können, da die letzteren, mit wenigen Ausnahmen, sich durch schwere, manchmal sogar sehr schwere, klinisch den Fällen mit Bakteriämie nicht nachstehende Form auszeichneten. Es wurden dabei hohe Temperatur, bedeutendes Oedem, heisere Stimme, beschleunigter Puls, manchmal mit Arythmie, und gehemmte Respiration sowie Schlucken beobachtet.

Anfänglich haben wir Serum [1]) subkutan, manchmal auch intravenös, 2—3 Tage nacheinander je 30—40 ccm, eingeführt. Der Effekt, bedeutende Besserung des örtlichen Prozesses und des allgemeinen Zustandes der Kranken, oft mit kritischem Temperaturfall, nach reichlichem Schweiße — trat in den meisten Fällen am 3. Tage ein. Später haben wir nur große Dosen, ca. 100 ccm auf ein Mal, und zwar ausschließlich intravenös, eingespritzt, wodurch der Effekt noch schneller erreicht wurde. Betrachten wir den schwersten Fall dieser Gruppe näher:

Nr. 1. 19. 10. 1924. R—d, Knabe, 3 Jahre, 3. Tag der Krankheit; Temp. 38,5 bis 38,8°; Puls 150—180 in 1 Min., sehr weich. Der örtliche Prozeß in Form von Blasen, nicht Karbunkel, am linken oberen Augenlide lokalisiert; bedeutendes teigartiges Oedem des ganzen Gesichtes und des behaarten Kopfteiles; sehr schwerer allgemeiner Zustand, Delirien, Fieberphantasie, Unruhe. Blut steril. Am Aufnahmetage wurden subkutan 20 ccm Serum und am folgenden Tage (20. 10.) noch 20 ccm intravenös eingespritzt, Besserung war aber nicht zu bemerken: Temp. 37,8—39,7°, Puls derselbe Am 21. 10. wurde der Kranke auf Verlangen der Angehörigen in demselben Zustande entlassen und nach Hause (20 km Entfernung) gebracht. Hier schien sich das Serum gar nicht bewährt zu haben, da wir diesen Kranken für hoffnungslos hielten, aber gegen alle Erwartungen trat schon am folgenden Tage nach genauen Angaben eine Krisis ein, der rasche Genesung folgte. Doch hatte bei diesem, wie auch bei einem anderen schwer Kranken, welcher sehr rasch nach der intravenösen Einspritzung einer großen Serumdosis gesund wurde, eine abnorme Heilung in Zusammenhang mit Lokalisation des Prozesses am Augenlide stattgefunden, was nachher eine operative Behandlung erforderlich machte; Serumkrankheit folgte aber nicht.

Gruppe B. In dieser 2. Gruppe der Kranken mit Allgemeininfektion handelte es sich um 8 Fälle (das Serum wurde nur in vier Fällen angewendet), auf die wir wegen der Wichtigkeit der Frage in jedem Falle besonders eingehen wollen.

Nr. 2. 21./12. 1921. P—w, Mann, 38 Jahre, gut gebaut und ernährt; 3. Tag der Krankheit, Temp. 38,3—38,6°, Puls schwach, bis 100 in 1 Min.; Pustel an der rechten Wange. Bedeutendes Oedem der rechten Gesichtshälfte, des Halses und der

1) Hier ebenso wie bei der Gruppe B wurde karbolisiertes Serum angewendet, wobei das Phenolprozent das zulässige ½proz. Maß nicht überstieg (alle Serumserien wurden an Mäusen geprüft). Das Prozent der nachfolgenden Serumkrankheit — wahrscheinlich infolge großer Dosen — war sehr hoch; sie verlief aber nicht schwer. Die Erscheinungen des anaphylaktischen Schocks traten nur in einem einzigen Falle auf, welcher aber auch günstig verlief (s. Kranke Mal—ew Nr. 11).

Brust. Respiration und Schlucken gehemmt; Stimme heiser; Mund öffnet sich mit Mühe; am Rachen Rötung und Oedem; Bewußtsein klar. Der Kranke steht auf den Füßen; Blut wurde nicht untersucht. Aus technischen Gründen wurde kein Serum angewendet. Am Abend bedeutende Verschlimmerung aller Symptome. — 22./12. Temp. 36,5°, Zyanose, Respiration noch mehr gehemmt, Puls sehr schwach, Oedemzunahme. Am Morgen um 10 Uhr verschied der Kranke bei vollem Bewußtsein. In Ausstrichen und Aussaten aus den Organen wurden bei der Sektion Milzbrandbazillen in reiner Kultur gefunden.

Nr. 3. 23. 5. 1923. Sch—o, Mann, 17 Jahre. Er wurde am 2. Tage der Krankheit, welche gleich nach dem Stechen eines Insekts ausgebrochen war, in sehr krankem Zustande mit sehr starkem, 5 Std. vorher plötzlich aufgetretenen Gehirnsymptomen nach der Klinik gebracht. Vorher war er noch gegangen und fühlte sich, nach Aussagen der Angehörigen, wohl. Bei seinem Eintritt war die Temperatur normal. An der Stichstelle fand sich in der rechten Schläfengegend eine Pustel und in der rechten Hälfte des Gesichtes und des Halses ein unbedeutendes Oedem. Der Kranke war bewußtlos, lag in sehr starken, fast ununterbrochenen, allgemeinen klonischen und tonischen Konvulsionen; Krämpfe der Augenmuskulatur mit Nystagmus höchsten Grades; aus dem Munde trat Schaum aus; Trismus, Opistho- und Emprosthotonus; unwillkürliches Harnlassen und Defäkation; sehr gehemmte Respiration mit inspiratorischer Dyspnoë; Puls fadenartig, kaum fühlbar, beschleunigt. Die Ausbrüche der Krämpfe werden von kurzen Pausen völliger Prostration mit Cheyn-Stokesschen Atemtypus unterbrochen. Während einer solchen Pause gelang es uns, 2—3 ccm Blut in eine große Petrischale zu bringen und in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens 2—3 Tropfen (Blut) einzuführen. Nach 1 Std. verschied der Kranke.

In den Ausstrichen und in den Aussaaten aus der Pustel wurden außer Milzbrandbazillen auch Streptokokken nachgewiesen, ferner in der Blutaussaat eine große Menge Milzbrandkolonien und eine ungeheuere Zahl von Kolonien hämolytischer Streptokokken. Das Meerschweinchen ging in 30 Std. an derselben gemischten Infektion zugrunde. Dem Kranken wurde das Serum nicht eingeführt. Es ist wohl möglich, daß bei der gemischten Infektion mit dem Ueberwiegen der Streptokokken keine Wirkung des Serums (quoad vitam) erzielt worden wäre, und zwar auch wenn die Krankheit nicht so stark und so schnell sich entwickelt hätte. Dieser Fall spricht also weder gegen, noch für die Serumwirkung.

Es ist nun sehr interessant, daß hier, entgegen der üblichen Ansicht, nach welcher die Streptokokken sowohl in vivo wie in vitro Antagonisten der Milzbrandbazillen seien, alle beide sowohl der Aussaat im Agar wie im Organismus dieses Kranken und, was besonders wichtig, auch des Meerschweinchens, welches für die Streptokokkeninfektion bekanntlich wenig empfänglich ist, sich sehr gut vertrugen.

Dies ist um so mehr bemerkenswert, als derselbe Streptokokkus, der bald nachher in reinem Zustande einem 2. Meerschweinchen (28. 5.) und einem Kaninchen (4. 6.) subkutan eingeführt wurde, beim letzteren eine tödliche Infektion, beim ersteren aber nur ein kleines, bald wieder verschwundenes Infiltrat hervorrief. Wir beobachteten also hier nicht das erwartete Unterdrücken der Milzbrandinfektion durch den Streptokokkus, sondern ganz im Gegenteil hat die Pathogenität der Streptokokken bei Anwesenheit der Milzbrandbazillen beim Meerschweinchen merklich zugenommen[1]).

Nr. 4. 6. 7. 1924. N—ow, Mann, 47 Jahre; 3. Tag der Krankheit; Temp. 38,7—38°; Puls 90 in 1 Min.; Pustel an der rechten Wange; unbedeutendes Oedem; Klagen über schwache Kopfschmerzen. Der Zustand war so gut, daß wir uns auf die Untersuchung der Pustel beschränkten und Blutaussaat nicht für nötig hielten, ja sogar kein Serum angewendet haben. 7. 7.: Temp. normal; der Kranke steht auf den Füßen; klagt über leichte Uebelkeit, unbedeutende Kopfschmerzen, Stechen im rechten Ohr[2]). Am Abend Bauchschmerzen und 6—8mal Durchfall. In der Nacht auf den 8. 7. verschied der Kranke. Bei der Sektion wurde die Generalisation des

1) Leider geben die Autoren (Gabritschewsky, Konjew, Hutyra und Marek, Macé, Kolle und Hetsch u. a.) nicht an, aus welchen Gründen sie den Antagonismus zwischen dem Streptokokkus und dem Milzbrandbazillus annehmen. Wenn es sich nicht um andere Angaben handelte, als um die von Wassermann und Keysser (6) beschriebenen Versuche, so ist es möglich, daß unsere Beobachtungen ihnen nicht besonders widersprechen, da jene Versuche nur an Kaninchen, nicht aber an Meerschweinchen ausgeführt worden sind.

2) Auf Grund dieses und einiger anderen Fälle sind wir geneigt, diesen Zeichen eine gewisse Bedeutung zuzuschreiben.

Prozesses mit dessen sekundärer Lokalisation im Darme festgestellt. Wir glauben, daß diese Generalisation erst in der Klinik sich vollzogen hat, und daß eine zur rechten Zeit ausgeführte Serumeinspritzung den traurigen Ausgang noch hätte verhindern können.

Nr. 5. 7. 6. 1925. L—ko, Mann, 33 Jahre, 4. Tag der Krankheit. Der Kranke wurde gleich dem Kranken Sch—o (s. Nr. 3) sehr schwer krank in die Klinik aufgenommen; starke Gehirnerscheinungen: Koma, laute, unregelmäßige Respiration von Biotschem Typus, frequenter, unregelmäßiger Puls, Pupillen weit und ungleich, Gesichtsfarbe dunkelrot; Temp. 40°. Nach Aussagen der Angehörigen traten alle diese Erscheinungen erst einige Stunden vor seiner Aufnahme ein, während er vorher die ganze Zeit bei vollem Bewußtsein war, sogar aufstand und nur über Fieber und Schmerzen im ganzen Körper klagte. Auf der dorsalen Seite der linken Hand befinden sich 2 nebeneinanderliegende, kaum hervorragende Hämorrhagiebläschen von Erbsengröße, welche sich bakteriologisch als von Milzbrand herrührend erwiesen; kein Oedem; in der Fossa axillar. sin. 1 große feste Drüse. Nach 1 Std. verschied der Kranke. Serum wurde nicht eingeführt, desgleichen wurde keine Blutaussaat gemacht, aber schon in den Blutausstrichen aus der Fingerkuppe fanden wir morphologisch typische Milzbrandstäbchen, freilich sehr spärlich. Bei der Sektion zeigte es sich, daß neben anderen affizierten Organen besonders die Lungen (beiderseitige läppchenartige hämorrhagische Pneumonie) und noch mehr das Gehirn (hämorrhagische Leptomeningitis und Encephalitis) affiziert waren. Die allgemeine Milzbrandinfektion wurde dabei bakteriologisch festgestellt.

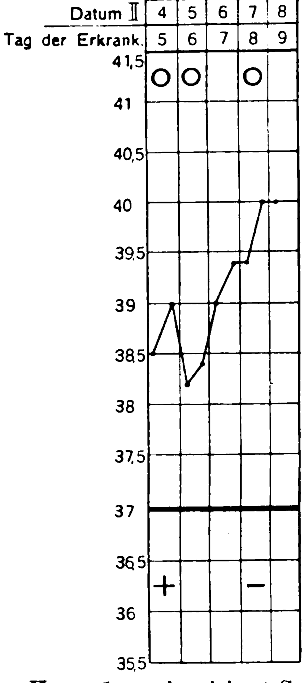
Abgesehen von der Grundfrage nach der Serotherapie ist dieser Fall in 2facher Beziehung von Interesse: 1) wurde bei diesem Kranken, ebenso wie bei dem Kranken Sch-o. (s. Nr. 3), in 2 Fällen von 35 Milzbrandaffektion des Gehirns beobachtet. Auf dieselben 35 Fälle kommt nur 1 Fall (s. Kranke N-ow., Nr.4) mit Darm- und 1 Fall (Nr. 5) mit der Lungenform des Milzbrandes. Wir sind somit zu behaupten berechtigt, daß neben dem Darm- und Lungenmilzbrand, und zwar auch nicht seltener, wenn nicht häufiger, Gehirnmilzbrand vorkommt. — 2) Schon vorher war es uns aufgefallen, daß in den Bakteriämiefällen (s. Kranke Nr. 3, 4, 6, 8) örtliche Erscheinungen, und zwar Hautödem um die Pustel herum, bedeutend schwächer waren, als in vielen schweren Fällen ohne Bakteriämie. Im gegebenen Falle fehlte bei dem Kranken L-o das Oedem vollständig. Man kann daher nach dem Grade des Oedems keinesfalls über die Schwere der Infektion urteilen und vor allem keine Prognose stellen. Es scheint also, daß es sich bei starkem Oedem um eine Schutzanpassung seitens des affizierten Organismus handelt. Das Oedem würde demnach eine Schranke sein, welche die Generalisation der Infektion verhindert. Das Fehlen des Oedems oder dessen schwache Entwicklung zeigt, die leichtesten Fälle ausgenommen, daß entweder die Widerstandsfähigkeit des Organismus stark herabgesetzt, oder das Virus sehr kräftig ist. Jedenfalls handelt es sich aber um sehr gefährliche Formen.

Nr. 6. 4./2. 1922. I—wa, Frau, 65 Jahre, 5. Tag der Erkrankung; sehr schwerer Zustand: Temp. 38,5—39°,; Puls weich, arythmisch, 80 in 1 Min.; Herzton dumpf; Respiration gehemmt; Stimme heiser; Pustel unter dem Kinn rechts; unbedeutendes Oedem der rechten Gesichtshälfte, des Halses und des oberen Brustteiles. Im Rachen: beide Tonsillen und weicher Gaumen ödematös und hyperämiert; in den Lungen trockenes Rasseln. Bewußtsein klar. Es wurden 40 ccm Serum unter die Bauchhaut eingeführt. In der Blutaussaat, welche 4 Std. nach der Einspritzung des Serums erfolgte, wurden Milzbrandbazillen (25 Kolonien auf 2 Petrischalen) gefunden.

Die Kranke blieb in der Klinik bis zum 8./2. und erhielt während dieser Zeit abermals eine intravenöse Serumeinspritzung, und zwar am 5./2. und 7./2. je 40 ccm; schon am 6. 2. konnten keine Milzbrandbazillen in der Pustel nachgewiesen werden; Blut, welches am 7. 2. vor der Seruminjektion ausgesät wurde, erwies sich als steril, außerdem war Abnahme des Oedems zu bemerken. Der antibakterielle

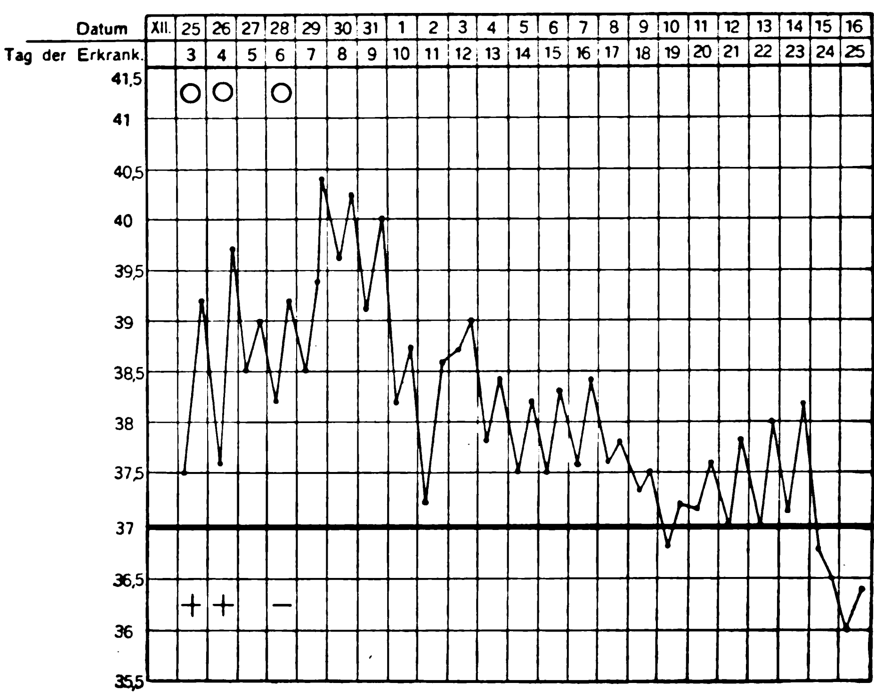
Effekt des Serums liegt hier auf der Hand. Der allgemeine Zustand der Kranken hat sich trotzdem verschlimmert: die Temperatur stieg bis 40°, Puls, wie früher arythmisch, wurde frequenter und erreichte am 7. 2. 150 in 1 Min. Außerdem wurden ikterische Färbung der Haut und subkutane Blutungen im die Injektionsstellen des Ol. Camph. beobachtet. Wir hatten es hier also von Anfang an mit einer sehr schweren Affektion des Herzgefäßsystems zu tun, welche wir mit unserer Therapie nicht überwinden konnten. Möglicherweise hat die Verschlimmerung des Prozesses in Zusammenhang mit einem festen, großen, roten Infiltrate mit scharfen Rändern, welches am 5. 2. am Bauche, der Stelle der 1. Serumeinspritzung, aufgetreten war, gestanden. Diese letzte Erscheinung kann man auf zweierlei Weise erklären: entweder war bei der Serumeinspritzung irgendeine Infektion erfolgt, oder es handelte sich um den Ausbruch der Serumkrankheit. Am 8. 2. wurde die Kranke nach Hause gebracht, wo sie nach kurzer Zeit verschied. Die Temperaturkurve (1) liegt bei.

Nr. 7. 25. 12. 1923. M—ow, Mann, 29 Jahre; am 3. Tage der Krankheit um Mittag in die Klinik eingetreten; schwerer Zustand; bedeutende Schwäche, Puls 120 in 1 Min. regelmäßig; Temp. 37,5°; Herztöne dumpf; Lungen normal; Pustel im Bereiche der linken Parotis; teigartiges Oedem an der linken Gesichtshälfte und dem Halse und federndes, elastisches[1]) am oberen Brustteile, hauptsächlich links bis zur Warzengegend; die sub- und supraklavikularen Drüsen links vergrößert. Mundhöhle: Oedem an der Seite der linken Wange; am Gaumen Hyperämie; linke Tonsille etwas vergrößert. Am Abend: Temp. 39,2°: Stimme heiserer, Oedem zugenommen; Respiration so stark gehemmt (Stenose des Larynx), daß man beabsichtigte, die Tracheotomie vorzunehmen. Während dieser Zeit wurde eine Blutaussaat angestellt, welche ein positives Ergebnis von B. anthracis gab; 40 ccm Serum wurden dem Kranken (6 Uhr abends) intravenös eingeführt. In der Nacht trat merkliche Besserung ein, so daß die Tracheotomie unterlassen wurde. Am 26. 12. Temp. 37,6—39,7°; Befinden gut; Respiration frei, Stimme weniger heiser, Oedem des Gesichtes und der Brust links bedeutend kleiner, doch hat es sich nach rechts auf den Hals und die Brust verschoben. Wegen des positiven Ergebnisses der gestrigen Blutaussaat wurden dem Kranken noch 30 ccm Serum intravenös eingespritzt, nachdem wir abermals eine Blutaussaat gemacht hatten, welche auch diesmal ein positives Ergebnis gab. 27. 12. Temp. 38,5—39°, weitere Besserung aller Erscheinungen: Stimme rein, Respiration normal, Oedem in der Mundhöhle verschwunden; auf der Brust Abnahme desselben; es zieht aber nach der rechten Subkostalgegend. 28. 12. Temp. 38,2—39,2°, Blut steril; von diesem Tage an nahmen alle Krankheitserscheinungen ab, wobei eine volle subjektive und objektive Besserung aller Symptome zu beobachten war, ausgenommen der Drüsen (linken sub- und supraklavikularen), welche lange noch in demselben Zustande blieben, und der Temperatur, welche sich um 40° bis zum 1. 1. 1924 und um 38° bis zum 16. 1. 1924 hielt (ohne daß der Kranke über sie klagte!). Wegen der hohen Temperatur wurden noch am 28. 12. — zum 3. Male — 30 ccm Serum dem Kranken intravenös eingespritzt, was aber, wie es scheint, ganz unnötig war. Wir glauben, daß wenigstens die subfebrilläre Temperatur, welche sich am 2. 1. 1924 einstellte, in Zusammenhang mit der von diesem Tage an ausgebrochenen Serumkrankheit steht; der Ausschlag war freilich von kurzer Dauer, die Schmerzen in den Gelenken und die Vergrößerung der Inguinaldrüsen aber dauerten noch einige Zeit fort. Dann folgte volle Besserung. Die Temperaturkurve (2) S. 58 wird angeführt.



Kurve 1. O bezeichnet Seruminjektion, + u. — bezeichnen das positive oder negative Resultat der bakteriologischen Blutuntersuchung.

1) Bei der Lokalisation des Oedems an der Brust war es immer teigartig, led ernd-elastisch.

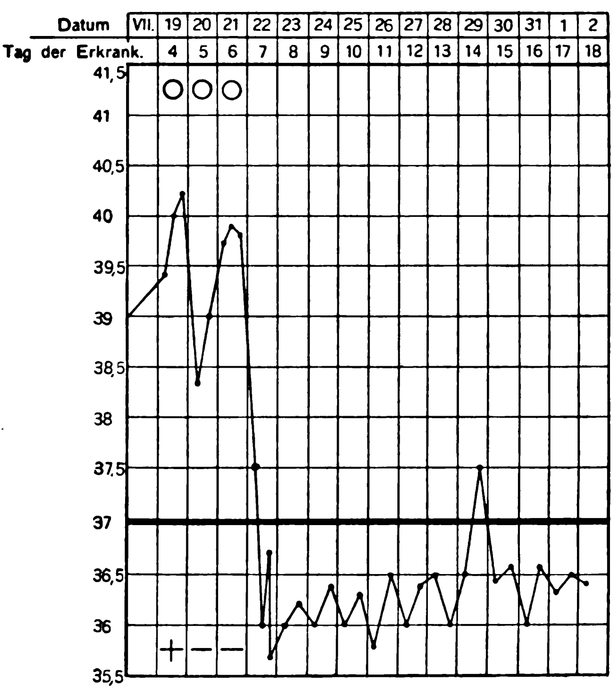


Kurve 2. O bezeichnet Seruminjektion, + und — bezeichnen das positive oder negative Resultat der bakteriologischen Blutuntersuchung.

Nr. 8. 19. 7. 1924. T—wa, Frau, 32 Jahre, graviditas 6. Mon., in sehr schwerem Zustand am 4. Tage der Krankheit nach der Klinik gebracht; Temp. 40°, Puls 120 in 1 Min.; Benommenheit. Pustel rechts hinter dem Kinn; nach oben mäßiges Oedem der rechten Gesichtshälfte an der Haut, wie an der Schleimhaut des Mundes; nach unten ganz unbedeutendes Oedem. Pat. klagt über Kopfschmerzen und Hemmung der Respiration. Der Mund öffnet sich nur mit Mühe, Schlucken unmöglich, Stimme schwindet bisweilen vollständig; Herzbeklemmung, Herztöne dumpf; starke Pulsierung der Karotiden. Durch Blutaussaat und durch Versuche an einer Maus (0,5 ccm Blut subkutan) wurde Bakteriämie festgestellt. In die Vene wurden 50 ccm Serum eingeführt. Während dieses und der folgenden 2 Tage trat zuweilen unbedeutende Besserung ein, im allgemeinen aber blieb der Zustand sehr schwer und bedenklich, ja sogar hoffnungslos, obwohl das Blut am 20. 7. und 21. 7. steril war. An diesen 2 Tagen wurde der Kranken abermals intravenös 50 ccm resp. 100 ccm Serum eingespritzt. Die Wirkung trat erst am 4. Tage ein: bei reichlichem Schweiße kritischer Temperaturabfall — von 40—35,7° —, welcher den ganzen Tag (22. 7.) dauerte, wobei eine starke Verlangsamung des Pulses (Bradykardie) beobachtet wurde. Die Kranke befand sich im Zustande der Euphorie. Während der nächsten 2 Tage auffallende Zunahme der Kräfte. — In der Nacht auf den 29. 7. kam T—wa ganz unerwartet mit einer Frucht weiblichen Geschlechts nieder, welche nach einer $^1/_2$ Std. verschied und in deren Organismus bei der Sektion keine Milzbrandbazillen nachgewiesen wurden. Diese Entbindung rief kurze Temperaturerhöhung auf 1° hervor. Serumkrankheit wurde wenigstens bis zum 2. 8. nicht beobachtet. Temperaturkurve (3) S. 59 liegt bei.

Nr. 9. 19. 6. 1925. G—ow, Mann von 43 Jahren, 4. Tag der Erkrankung. Pustel im Bereich der linken Warze; elastisches, anfangs begrenztes Oedem, welches aber vor unseren Augen wuchs und nach $1^1/_2$—2 Std. schon fast die ganze linke Brustseite besetzte; in der linken Achselgrube eine feste Drüse von Walnußgröße; Klagen unbestimmt; Bewußtsein klar; Temp. 38,5°, Puls regelmäßig, ca. 100 in 1 Min. Blutaussaat mit 3—4 ccm Blut ergab nach 15 Std. ca. 60 Milzbrandbazillenkolonien. Intravenös wurden 100 ccm Serum eingeführt, wonach das Oedem

sich zu vergrößern aufhörte. 20. 6. Temp. 38,9—40,5°, Puls 100—110 in 1 Min.; am Morgen hat das Oedem entschieden abgenommen; keine Klagen, trotz Verschlimmerung des allgemeinen Zustandes; Pat. schläft die ganze Zeit, ist sehr apathisch; Status typhosus. Deswegen und hauptsächlich wegen der starken, durch die gestrige Blutaussaat nachgewiesenen Bakteriämie wurden dem Kranken abermals — 15 Std. nach der 1. Injektion — 100 ccm Serum eingespritzt, nachdem wir das Blut nochmals ausgesät hatten, welches diesmal aber nur 2 Kolonien (pro 3—4 ccm Blut) ergab. Außer dem Serum wurde dem Kranken auch Ol. camph. und physiologische Kochsalzlösung injiziert — Am 21. 6.: Temp. 39,6—39,7°; während des ganzen Tages war der Zustand ebenso schwer wie am Tage vorher; doch war das Blut steril (3. Aussaat). Am Abend — 48 Std. nach der 1. und 30 Std. nach der 2. Seruminjektion — trat im Verlauf 1 Std. ein plötzlicher Wechsel ein; Temp. sank von 40 auf 37°, der vordem schläfrige Patient wurde munter und heiter, Euphorie trat auf, und es zeigte sich Eßlust. In der Nacht auf den 22. 6. und auch auf den 23. 6. reichlicher Schweiß. An diesen und den folgenden Tagen Bradykardie und subnormale Temperatur; auffallend schnelle Zunahme der Kräfte. Oedem verschwand schon am 22. 6. Serumkrankheitserscheinungen am 12. Tage: Schmerzen in den Beingelenken während 2 Tag. Temperaturkurve (4) S. 60 liegt bei.

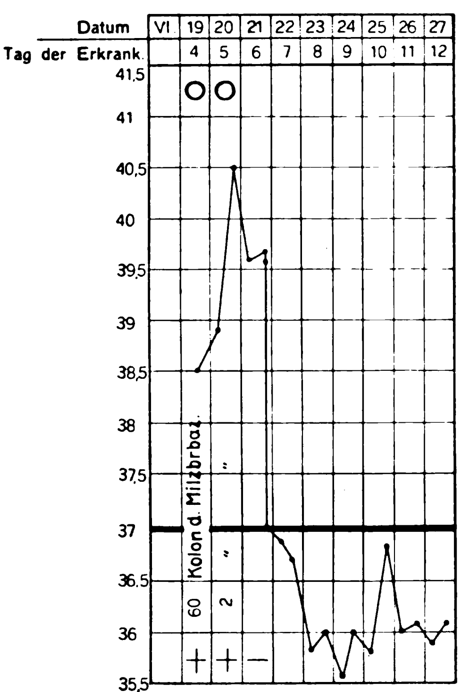


Kurve 3. ○ bezeichnet Seruminjektion, + u. — bezeichnen das positive oder negative Resultat der bakteriologischen Blutuntersuchung.

Der Ausgang der Infektion bei den 7 Kranken der Gruppe B (der Kranke Sch-o — Nr. 3 — ist ausgeschlossen, weil es sich hier um eine Mischinfektion handelt) ist demnach folgender:

Die 3 Kranken (Nr. 2, 4 und 5), bei denen Serum nicht angewendet war, starben alle am 4. Tag der Krankheit, nachdem sie in der Klinik 24 resp. 36 und 2 Std. gelegen hatten, obwohl Nr. 2 und besonders Nr. 4 klinisch die leichtesten Fälle waren. Von den 4 Fällen aber, welche klinisch viel schwerer und mit dem Serum behandelt worden waren, trat der Tod nur in 1 Falle, und zwar bei der kranken Frau I-wa (Nr. 6), bei der das Herz schwer getroffen war, ein. Hier aber ist es der Wirkung des Serums zu verdanken, daß 1. nach ihrer Einspritzung die Bazillen aus der Pustel und, was besonders wichtig ist, aus dem Blute verschwanden, und daß 2. der Tod relativ spät, jedenfalls erst am 4. Tage (am 9. Tage nach der Erkrankung!) nach der 1. Seruminjektion eingetreten ist. Hier drängt sich der Gedanke an den Zusammenhang zwischen der Genesung in den Fällen

Nr. 7, 8, und 9 und der Serumbehandlung von selbst auf, das ungünstige Resultat aber im Falle Nr. 6 vermindert nicht die Spezifizität dieses Serums. Ich erinnere daran, daß sogar bei dem allgemein anerkannten Antidiphtherieserum die Sterblichkeit nur von 35—40 Proz. bis auf 10—15 Proz. herabgesetzt wird.



Kurve 4. O bezeichnet Seruminjektion, + und — bezeichnen das positive oder negative Resultat der bakteriologischen Blutuntersuchung.

Wir geben hier einige sehr vorsichtig zusammengestellte statistische Berechnungen: Wenigstens in den Fällen Nr. 1, 7, 8, und 9 hätte die Infektion ohne Serumanwendung sicherlich mit dem Tod geendigt, und bei den 34 Milzbrandkranken (reine Form!) wären 8 Sterbefälle zu rechnen, was ca. 3,5 Proz. beträgt (eine Mittelzahl für diese Infektion bei genauer Diagnostik), während bei den 28 Kranken (24 aus der Gruppe A und 4 aus der Gruppe B), welche mit Serum behandelt worden waren, nur ein einziger Todesfall (Nr. 6, Gruppe B, vorgekommen ist), also nur 3,6 Proz.

Außer den besprochenen 35 Fällen bakteriologisch festgestellter Milzbrandinfektion hatten wir noch 2 Fälle, bei denen die Diagnose nur klinisch, aber doch unbestreitbar gestellt worden war. Sie sind beide so demonstrativ, daß wir sie näher betrachten wollen:

Nr. 10. 6. 4. 1923. Kr—ke K—o. Mann, 52 Jahre; kam am 7. Tage der Krankheit in die Klinik; 5 Tage vorher war ihm in einem Ambulatorium, wo die Milzbranddiagnose gestellt war, die Pustel kauterisiert worden, wonach an ihrer Stelle am Halse rechts eine trockene, schwarze Kruste mit großem, festen Infiltrat sich bildete, welches den Bereich der rechten Parotis einnahm. Ein unbedeutendes Oedem fand sich in der Gegend des rechten Schlüsselbeines. Kurz vor der Erkrankung beschäftigte sich der Kranke mit Schaffellen unbekannten Ursprungs. Der Kranke war fast die ganze Zeit auf den Füßen. Bei der Aufnahme betrug die Temp. 36,5°, Puls 90 in 1 Min., etwas gespannt; Klagen über Schmerzen in der rechten Hälfte des Schlundes, das Schlucken etwas gehemmt, Stimme etwas heiser, bisweilen Stechen am rechten Ohre; kleines Oedem des oberen linken Lides. 3 Std. nach der Aufnahme verschlimmerte sich ganz unerwartet der Zustand; es traten Zyanose und Atemlosigkeit ein, und nach 5 Min. verschied der Kranke im Zustande höchster Dyspnoë und Erstickens.

Eine bakteriologische Untersuchung wurde leider nicht ausgeführt, da an der Stelle der Pustel nur eine ganz trockene Kruste sich befand, und der gute Zustand des Kranken keinen Anlaß gab, mit der Blutaussaat und der Serumeinführung zu eilen. Sektion fand nicht statt.

Nr. 11. 17. 11. 1924. Mal—ew, Mann, 16 Jahre, Dorfarbeiter; 3. Tag der Erkrankung; sehr schwerer Zustand: Temp. 39—40°, Puls 120 in 1 Min. Benommenheit, manchmal Phantasien und Delirien. Breites „milzbrandartiges" elastischfederndes Oedem der Brust; im Jugulo eine gangränöse Kruste, welche nach der

Kauterisierung der Pustel — in einem Dorfambulatorium 1 Tag vorher — entstanden war. Blut steril (Aussaat und Tierversuch); die durch die Kauterisierung entstandene Kruste bot keine Möglichkeit, die Anwesenheit von Milzbrandbazillen in der Pustel zu konstatieren, trotz aller Bemühungen (Ausstrichen und Aussaaten). Diesem Kranken wurden 60 ccm Serum eingeführt.

Am folgenden Tage Temp. 38,1—38,5°, Oedemabnahme, bedeutende Besserung des Allgemeinbefindens. Vom 19. 11. an stellte sich nach reichlichem Schweiße normale Temperatur ein, doch blieb der Kranke wegen der gangränösen Wunde an der Stelle der kauterisierten Pustel, welche Wunde lange nicht heilte, noch 1½ Monate in der Klinik.

Nach der Einführung des Serums folgte bei diesem Kranken im Unterschied aller übrigen Fälle eine sehr starke sofortige Reaktion in Form eines deutlichen anaphylaktischen Schocks. Kaum war die Serumeinspritzung beendigt, als der Kranke unruhig wurde, sich hin und her zu werfen begann und bald das Bewußtsein verlor; Puls verschwand fast vollständig, es traten Erbrechen, Atemlosigkeit ($^2/_6$ Respirationen in 1 Min.). Zyanose und plötzliche Erkaltung (vorher 40°) ein; am Gesichte trat Schweiß auf; unwillkürliches Harnlassen und flüssige Defäkation; in den Lungen diffuses, trockenes Rasseln. Ausschlag fehlte, obwohl der Kranke von Zeit zu Zeit seinen Körper kratzte.

Alle diese bedrohlichen Erscheinungen dauerten ca. 10 Min., nachher aber waren sie vollkommen verschwunden, und der Kranke zeigte wieder denselben Zustand wie vor der Injektion, nur klagte er noch über Bauchschmerzen. Während des Anfalls bekam er Kampfer und erhielt Wärmflaschen. Die Serumerscheinungen wurden während der ganzen Zeit (1½ Monate) nicht mehr beobachtet. Bemerkenswert ist, daß nach den Aussagen des Kranken ihm bisher niemals Serum eingeführt worden war. Es scheint daher, daß wir für den Anfall die Serumserie verantwortlich machen müssen, da die sofortigen Ueberempfindlichkeitserscheinungen — freilich weniger bedrohlich und nur in Form von Ausschlägen und Frösteln — noch bei 3 von der 9 Personen, welche mit derselben Serumserie behandelt worden waren, beobachtet. Bei der Injektion der 3 übrigen Serumserien wurden jedenfalls solche Erscheinungen nie beobachtet.

Ergebnisse.

1) Das Anthraxserum besitzt deutlich ausgeprägte sterilisierende und heilende Eigenschaften bei dem Milzbrand des Menschen und setzt das Prozent der Sterblichkeit bedeutend herab. — 2) Der Milzbrand kann in beliebigem Moment eine sehr bösartige Form annehmen, welche bisweilen blitzartig zum Tode führt. Darum ist es notwendig, das Serum möglichst bald und auch in den leichten Fällen einzuführen. — 3) Um den therapeutischen Effekt in Fällen der Milzbrandbakteriämie, ebenso wie in den schweren Formen der rein örtlichen Prozesse, zu bekommen, ist es notwendig, abermals große Serumdosen, womöglich intravenös, einzuspritzen, abgesehen von relativ rascher Blutsterilisation.

Literatur.

1) Sspassky, Wratsch. Gazetta. [Russisch.] 1923. Nr. 1—2. — 2) Kuschewa, Now. chirurg. Archiv [russisch]. 1923. Nr. 10. — 3) Skrotzky, Sowrem. Medizina. [Russ.]. 1924. Nr. 7—9. — 4) Sclavo, Berl. klin. Wochenschr. 1901. Nr. 19. — 5) Becker, Münch. med. Wochenschr. 1912. Nr. 4. — 6) Wassermann u. Keysser, Misch- u. Sekundärinfektion. (Handb. von Kolle u. Wassermann. 2. Aufl. Bd. 1. 1912.)

Untersuchungen zur Frage der Abänderung der amtlichen Anleitung für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion.

[Aus der bakteriologischen Abteilung (Serologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamtes in Berlin-Dahlem.]

Von **P. Manteufel** und **A. Richter.**

In einem Vortrag aus dem Jahre 1924 hat der eine von uns aus amtlichen Quellen die Bedenken, die sich gegen einzelne Punkte der durch den Reichsgesundheitsrat am 17. 7. 1919 aufgestellten „Anleitung für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion“ im Laufe der Zeit ergeben hatten, und die Vorschläge, die von verschiedensten Seiten zu einer Vereinfachung und Verbesserung der Technik dieser Reaktion gemacht wurden, kurz zusammengefaßt.

Inzwischen ist die amtliche Anleitung insofern abgeändert worden, als die Bestimmung der völlig lösenden Ambozeptordosis nur unter Verwendung der Komplementverdünnung $^1/_{10}$ — Vorversuch A der Anleitung — auszuführen ist, und auch im Hauptversuch das Arbeiten mit der Komplementverdünnung $^1/_{20}$ unterbleiben kann. Ferner ist dem Untersucher freigestellt worden, ob er die Sensibilisierung der roten Blutzellen (durch Mischung von gleichen Teilen Ambozeptorgebrauchsdosis und Blutzellenaufschwemmung) erst kurz vor der Beblutung des Hauptversuches oder durch vorherige halbstündige Bindung bei 37° vornehmen will.

Die übrigen in dem oben erwähnten Vortrage erwähnten Verbesserungsvorschläge sind bisher in der Schwebe geblieben, weil sich eine allgemein befriedigende Einigung aller Sachverständigen ohne vorherige Prüfung noch nicht erzielen ließ. Dem mit diesen Prüfungen beauftragten Ausschuß des Reichsgesundheitsrats liegt seit längerer Zeit ein Entwurf für die Neufassung der amtlichen Anleitung vor, der die vorgebrachten Wünsche berücksichtigt und einerseits einen Fortfall des Vorversuchs B — Bestimmung der völlig lösenden Ambozeptordosis nach vorherigem Zusammenwirken mit Extrakt und Komplement — dafür aber einen anderen Vorversuch betr. Komplementauswertung vorsieht.

Es soll hier zunächst auf die Frage der Komplementdosierung eingegangen werden, weil hierüber in der Zwischenzeit eine Veröffentlichung von A. Klopstock aus dem Heidelberger Institut von Sachs und eine zweite von Munter, einem Mitarbeiter von Otto, erfolgt ist.

Klopstock macht in seiner Arbeit darauf aufmerksam, daß bereits bei Untersuchungen von Kondo aus dem gleichen Institut Meerschweinchensera mit hohem Komplementtiter beim hämolytischen Versuch nicht etwa eine herabgesetzte, sondern eher eine erhöhte Empfindlichkeit als Komplement bei der WaR. zeigten (in einer 10proz. Einheitsdosis verwendet), daß also ein Komplementüberschuß keineswegs immer zu einer abgeschwächten WaR. Veranlassung geben muß. Von mindestens ebenso großer Bedeutung wie die hämolytische Komplementwirkung ist nach Klopstocks eigenen Untersuchungen die „Deviabilität“ des Meerschweinchenserums. Da ein Parallelismus zwischen Komplementfunktion im Hämolyseversuch und Deviabilität im Komplementbindungsversuch aber keineswegs bestehe, vielmehr beide

Eigenschaften des Meerschweinchenserums in mehr oder minder weiten Grenzen unabhängig voneinander seien, so ergäbe eine Komplementtitration im Hämolyseversuch sicherlich keine Gewähr dafür, daß damit optimale Bedingungen für die WaR. erzielt werden.

Dieses Bedenken gegen die Brauchbarkeit einer Komplementauswertung würde sich nach unserer Auffassung nur gegen eine Methodik richten, die lediglich die hämolytische Quote der Komplementwirkung berücksichtigt, etwa in der Art, wie sie in der amtlichen Anleitung unter Ziffer 7 als unverbindlicher Kontrollversuch bereits angegeben ist. Gegen diese Methodik erhebt sich aber, wie bereits in dem erwähnten Vortrage von Manteufel ausgeführt ist, noch ein anderes Bedenken, nämlich insofern, als zu große Sprünge in der Komplementverdünnungsreihe bestehen, die praktisch keine genaue Einstellung ermöglichen (1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 (Näheres darüber S. 65).

Wenn eine Auswertung vorgenommen wird, dann muß man die Versuchsbedingungen wohl möglichst genau ebenso gestalten, wie sie im Hauptversuche liegen und deshalb die Veränderung des Komplements durch die Einwirkung des Patientenserums einerseits und der Extraktserummischung andererseits mit berücksichtigen; damit ist man dann sogleich in die Lage versetzt, etwaige Differenzen zwischen der reinen hämolytischen Quote und der Deviabilität des benutzten Tageskomplements zu erkennen und später im Hauptversuch zu berücksichtigen.

Auch Munter kommt in seiner Arbeit zu einer Ablehnung der Notwendigkeit einer Komplementtitration. Er hat eine große Reihe von Patientensera vergleichend mit Komplementverdünnungen von 1/10, 1/15, 1/20 und mit dem durch Vorversuch bei den verschiedenen Komplementen ermittelten Wirkungsminimum mittels der WaR. ausgewertet. Die Ermittelung des Komplementminimums erfolgte dabei unter Berücksichtigug der Einwirkung von Extraktverdünnung und negativem Serum, und zwar wurde im Hauptversuch dann diejenige Komplementmenge gewählt, die nach 1 Std. bei 37° (Brutschrank) gerade noch glatte Lösung ergab. Dabei erhielt Munter, wie auch nach unseren Ergebnissen zu erwarten war, mit beiden verwendeten Extrakten bei den geringeren Komplementdosen mehr positive Reaktionen, aber die positiven Befunde bei anscheinend luesfreien Personen zeigten, daß sich mit der Verschärfung der Reaktion durch Verwendung geringerer Komplementmengen auch die Gefahr unspezifischer Reaktionen vermehrte.

Zu diesen Ergebnissen von Munter wäre unseres Erachtens zu bemerken, daß die Versuche mit Herabsetzung der Komplementdosis auf $^1/_{15}$ oder $^1/_{20}$ ohne vorherige Titration keine zuverlässigen Anhaltspunkte zur Beurteilung eines vorhandenen Plus oder Minus von Komplement geben, da nach unseren Erfahrungen die Wirksamkeit der einzelnen Meerschweinchensera als Komplement erheblichen Schwankungen unterliegt: die Verdünnung $^1/_{15}$ übersteigt bei manchen Komplementen schon die Grenze des wirksamen Minimums, während sie bei anderen noch ein erhebliches Plus darstellt. Was die Versuche Munters mit dem austitrierten Lösungsminimum anlangt, so stimmen sie mit den Erfahrungen von Gaehtgens und den unsrigen überein, daß man beim Arbeiten mit dem einfachen Komplementminimum, wie es ja bei der Kaupschen Modifikation bereits vorgesehen ist, auf störende Hämolysehemmungen im Hauptversuch gefaßt sein muß, weil die verschiedenen Patientensera in Verbindung mit einem gleichen Extrakt durchaus nicht quantitativ gleichmäßig auf das Komplement einwirken. Es ist deshalb schon in dem erwähnten Vortrag von Manteufel auf einen Vorschlag von Pfeiffer-Schwerin zurückgegriffen worden, nämlich auf eine derartig empfindliche Einstellung der Reaktion ganz zu ver-

zichten und etwas mehr Komplement im Hauptversuch zu verwenden als dem austitrierten Minimum entspricht.

Inzwischen hat sich in unseren Versuchen herausgestellt, daß man auch bei einem 1proz. Ueberschuß sehr häufig ± Ausschläge bekommt, die den praktischen Bedürfnissen nicht entsprechen und zu einem großen Teil wohl lediglich auf Komplementmangel zu beziehen sind. Deshalb sind wir seit Jahresfrist dazu übergegangen, als Komplementgebrauchsdosis für den Hauptversuch einen 2proz. Ueberschuß über das ausgewertete Komplementminimum zu verwenden. Seitdem sind die dubiösen Ausschläge nicht mehr störend in die Erscheinung getreten. Auch verschiedene Sachverständige des Reichsgesundheitsrates haben sich für die Zweckmäßigkeit eines 2—3proz. Ueberschusses ausgesprochen.

Wir möchten nun an der Hand der folgenden Zusammenstellung, in der die Komplementauswertung der einzelnen „Wassermanntage" des Jahres eingetragen sind, zu den methodischen Fragen der Komplementauswertung und der Möglichkeit einer Verminderung der Extraktzahl Stellung nehmen.

Die Patientensera stammten zumeist aus einem allgemeinen Krankenhaus, in dem bei einem großen Teil der Aufnahmen grundsätzlich auch ohne Anamnese oder Verdacht die serologische Untersuchung auf Syphilis vorgenommen wird. Es handelt sich im ganzen um 1750 Sera und Lumbalpunktate.

An Extrakten wurden, um möglichst verschiedenartige in den Versuch zu stellen, wie es Ziffer 4 der amtlichen Anleitung vorsieht, solche aus dem Institut v. Wassermann (alkoholische Extrakte aus Lueslebér mit Meerschweinchenextrakt verdünnt) aus der Frankfurter Hirschapotheke (cholesteriniert nach der Vorschrift von Sachs) und eigene Rinder- bzw. Pferdeherzextrakte (cholesterinarme in Anlehnung an die Vorschrift von Bordet-Ruelens) verwendet. In einer beschränkten Zahl von Fällen kam auch das Extrakt nach Otto-Blumenthal zur Anwendung.

Das Komplement wurde grundsätzlich am Tage vor der Anstellung des Versuchs gewonnen, und zwar teils durch Herzpunktion von mehreren Tieren, teils durch Entblutung eines oder zweier Tiere, meist männlichen Geschlechts. Diese Verwendung von gelagertem Komplement sollte, da es uns auf schärfere Komplementdosierung ankam, nach den Erfahrungen von Dold und Klinkhart sowie v. Wassermann eine größere Konstanz des Titers während der ganzen Versuchsdauer gewährleisten. Aus den Versuchen der beiden erstgenannten Autoren ging bekanntlich hervor, daß die hämolytische Wirkung des Komplements innerhalb der ersten 6 Std. nach der Gewinnung außerordentlich großen Schwankungen unterliegt, während von dieser Zeit an ein langsames allmähliches Sinken des Titers einsetzt.

Uebereinstimmend damit haben wir mit dem gelagerten Komplement auch befriedigende Erfahrungen gemacht, dagegen müssen wir sagen, daß die Verwendung von ausschließlich männlichen Tieren uns nicht davor bewahrt hat, daß gelegentlich, und manchmal serienweise, zu schwache, und manchmal ganz unbrauchbare Komplemente auf den Laboratoriumstisch kamen. Wir wissen bisher keine Möglichkeit, dieses höchst störende Vorkommnis auszuschalten. Daß der Titer der einzelnen Komplemente in sehr erheblichen Breiten schwankte, wird später noch genauer zu erörtern sein.

Ueber das hämolytische System in unseren Versuchen wäre nur zu sagen, daß die 5proz. Hammelblutaufschwemmung nicht auf Vollblut, sondern auf gewaschenes Sediment berechnet ist. Die Mischung von Ambozeptorgebrauchsverdünnung (4fache Titerdosis) und Blutzellenaufschwemmung fand sogleich nach Feststellung des Ambozeptortiters statt, und zwar wurde der ganze Bedarf für den Versuch auf einmal angesetzt und für die Dauer des Versuchs bei Zimmertemperatur gehalten. Irgendwelche Bedenken gegen diese Vereinfachung der Methodik haben sich dabei nicht ergeben.

Unsere Methodik der Komplementauswertung ist aus dem folgenden Versuchsschema zu ersehen, das in 5 parallelen Reihen zu je 9 Röhrchen ausgeführt wurde.

Tabelle I.
Bestimmung der Komplement-Gebrauchsdosis.

Röhrchen	Komplement	0,85-proz. Kochsalzlösung	Gebrauchsdosis von Extrakt I	Negatives Mischserum 1:5
1	0,5 ccm 1:10 (10-proz.)	0,0 ccm	0,5 ccm	0,5 ccm
2	0,45 „ „ (9 „)	0,05 „	„ „	„ „
3	0,4 „ „ (8 „)	0,1 „	„ „	„ „
4	0,35 „ „ (7 „)	0,15 „	„ „	„ „
5	0,3 „ „ (6 „)	0,2 „	„ „	„ „
6	0,25 „ „ (5 „)	0,25 „	„ „	„ „
7	0,2 „ „ (4 „)	0,3 „	„ „	„ „
8	0,15 „ „ (3 „)	0,35 „	„ „	„ „
9	0,1 „ „ (2 „)	0,4 „	„ „	„ „

Der obige Versuch ist in 5 gleichlaufenden Reihen anzusetzen, nämlich: Reihe I—III mit den Gebrauchsdosen der 3 zu verwendenden Extrakte und dem gleichen negativen Mischserum, Reihe IV unter Ersatz der Extrakte durch isotonische Kochsalzlösung (mit dem negativen Mischserum allein), und Reihe V unter Ersatz von Extrakt und negativem Mischserum durch die entsprechende Menge (1,0) isotonischer Kochsalzlösung.

Man läßt die nach dem Schema beschickten Versuchsreihen 1/2 Std. im Wasserbad binden, fügt dann die sensibilisierten Blutzellen hinzu und liest nach einer weiteren 1/2 Std. im Wasserbad das Ergebnis ab. Die folgende Zusammenstellung zeigt nun die Ergebnisse dieser Auswertungen an 47 Versuchstagen (s. Tab. II, S. 66).

Aus Reihe V ergibt sich zunächst, daß der Titer der Komplemente ohne Beeinflussung durch die anderen Reaktionskomponenten der 1. Phase an den 47 Versuchstagen zwischen 3 und 10 Proz. gewechselt hat. Es sind dabei die Komplemente nicht aufgeführt, bei denen die Hämolyse auch in 10proz. Verdünnung gar nicht oder nicht komplett erfolgte, und der Versuch mit anderem Komplement wiederholt werden mußte. Eine derartig ausgesprochene Komplementarmut des Meerschweinserums macht sich meist bereits im ersten Vorversuch der Anleitung, nämlich bei der Auswertung des Ambozeptors, bemerkbar. Bei der genaueren Auswertung der rein hämolytischen Komplementwirkung ergibt sich nun aus Reihe V, daß bei unseren Tieren von einer auch nur einigermaßen gleichmäßigen Wertigkeit der Meerschweinsera keine Rede sein kann. Ferner ergibt sich, daß der Komplementtiter an 23 Tagen zwischen 3—5 Proz. lag und an den übrigen 24 Tagen zwischen 5—10 Proz. Da, wie man weiter ersehen wird, die minimalen Dosen von 3 Proz. infolge der meist antikomplementären Wirkung von Extrakt und Serum praktisch gar nicht in Frage kommen, wird man eine Brauchbarkeit des Komplementserums in der Verdünnung 1/40 (2,5 Proz.) schon als äußerst selten bezeichnen müssen. Der fakultative Komplementkontrollversuch unter Ziffer 7 der Anleitung, der Sprünge von 1/10 auf 1/20, 1/40, 1/80 und 1/160 vorsieht, dürfte also zweckmäßiger durch eine andere Abstufung mit kleineren Sprüngen zu ersetzen sein (vgl. S. 63).

Aus der Reihe IV der Tabelle ergibt sich, daß die Komplemente durch die halbstündige Einwirkung von negativem Mischserum 3mal etwa um 1 Proz. gewannen, 24mal unverändert blieben und 20mal verloren, im letztgenannten Falle um 1—4 Proz. Die Zunahme der Wirksam-

Tabelle II.
Ausgewertetes Komplement-Minimum in Prozent.

1	2	I	II	III	IIIa	IV	V
Versuchsnummer	Versuchstag	Extraktgebrauchsdosis + negatives Mischserum				negatives Serum	Isoton. Kochsalzlösung
		Wassermann-Extrakt	Sachs-Extrakt	cholesterinarmes Eigenextrakt	Otto-Extrakt		
		(in Proz.)	(in Proz.)	(in Proz.)	(in Proz.)	(in Proz.)	(in Proz.)
1	15. 1. 1925	6	6	6	.	6	6
2	22. 1. „	12	12	12	.	9	9
3	29. 1. „	10	9	7	.	9	7
4	5. 2. „	7	6	10	.	6	7
5	12. 2. „	6	7	6	.	4	4
6	19. 2. „	5	5	5	.	5	6
7	26. 2. „	8	8	7	.	7	5
8	5. 3. „	7	7	5	.	5	5
9	12. 3. „	7	7	7	.	7	3
10	19. 3. „	6	6	4	.	4	3
11	26. 3. „	6	6	6	.	5	5
12	2. 4. „	6	6	5	.	5	5
13	8. 4. „	7	7	7	.	7	8
14	16. 4. „	8	8	10	.	8	7
15	23. 4. „	8	8	8	.	8	7
16	30. 4. „	9	10 ±	8	.	8	8
17	7. 5. „	12	14	12	.	12	10
18	14. 5. „	6	÷	5	6	5	4
19	21. 5. „	6	÷	5	6	5	4
20	28. 5. „	8	7	7	8	6	6
21	4. 6. „	8	÷	8	8	6	6
22	11. 6. „	12	14 ±	12	14	9	9
23	18. 6. „	7	÷	7	8	7	7
24	25. 6. „	9	9	9	.	7	7
25	1. 7. „	9	8	8	.	7	6
26	9. 7. „	8	8	8	.	7	6
27	16. 7. „	7	6	6	.	5	4
28	23. 7. „	9	10	5	.	5	5
29	30. 7. „	6	6	5	.	4	4
30	6. 8. „	5	5	4	.	4	4
31	13. 8. „	5	5	5	.	4	4
32	20. 8. „	7	7	7	.	7	6
33	27. 8. „	8	8	8	.	6	5
34	3. 9. „	7	7	7	.	6	6
35	10. 9. „	4	4	4	.	4	3
36	17. 9. „	5	5	5	.	4	4
37	24. 9. „	5	4	4	.	4	3
38	1. 10. „	5	5	9	.	5	5
39	8. 10. „	8	6	6	.	5	5
40	15 10. „	8	7	÷	8	7	7
41	22. 10. „	5	5	5	.	5	4
42	29. 10. „	9	9	8	.	7	6
43	5. 11. „	8	8	8	.	8	8
44	12. 11. „	6	6	6	6	5	5
45	19. 11. „	7	7	5	.	5	4
46	26. 11. „	6	6	6	.	5	5
47	3. 12. „	10	10	9	.	8	7

keit kann man vielleicht auf einen Gehalt an Normalambozeptor für Hammelblut im negativen Mischserum beziehen. Man sieht, daß dieser Fall bei uns relativ selten war. Wenn man in einem solchen Falle der Feststellung der Komplementgebrauchsdosis für die Serumkontrollen des Hauptversuches diesen Titer zugrunde legen würde, dann könnte in-

folge Komplementmangel eine unzutreffend große Zahl von Eigenhemmungen vorgetäuscht werden. Es scheint deshalb richtiger, in solchen Ausnahmefällen der Komplementdosierung bei den Serumkontrollen des Hauptversuches den Titer aus der Reihe V zugrunde zu legen. Man nimmt dann insofern eine kleine Fehlerquelle in den Tausch, als eine Anzahl geringer Eigenhemmungen übersehen wird. Wie man aus der Reihe IV aber ersieht, hat man in der überwiegenden Mehrheit der Fälle damit zu rechnen, daß die hämolytische Komplementwirkung durch die Einwirkung von Serum entweder nicht verändert oder vielmehr abgeschwächt wird; und deshalb könnte man unseres Erachtens zwecks Vereinfachung der oben beschriebenen Technik die Komplementauswertung der Reihe V vielleicht ganz unterlassen, zumal wir uns durch Stichproben mit normalambozeptorhaltigen positiven Patientenseren und Kaninchenseren davon überzeugt zu haben glauben, daß auch schwache positive Reaktionen durch den meist geringen Gehalt an Normalambozeptor nicht verschleiert werden.

Wir können jedenfalls in diesen Ergebnissen keinen Anlaß dazu finden, die Möglichkeit etwaiger durch Normalambozeptorgehalt bedingter Fehlerquellen durch das umständliche und zeitraubende Absättigen aller Patientensera mit Hammelblutzellen vor dem Wassermannschen Versuch auszuschalten.

Auffällig ist in dieser Reihe IV der Befund am 9. Versuchstage, bei dem die antikomplementäre Beeinträchtigung des Meerschweinserums durch das Patientenmischserum 4 Proz. betrug, statt wie gewöhnlich 1 bis 2 Proz.

In diesem Falle ist im Hauptversuch sicher mit einem stärkeren Komplementüberschuß gearbeitet worden als nötig war, so daß man eigentlich ein Ueberhandnehmen von negativen Reaktionen hätte erwarten sollen. Tatsächlich hatten wir aber an diesem Tage unter im ganzen 38 Proben 7 positive und 2 zweifelhafte Reaktionen, ein Verhältnis, das nach der Art unseres Materials keinen Argwohn in dieser Hinsicht erweckt. Nach Maßgabe der Titrationen in Reihe I—III wurde an diesem Tage im Hauptversuch bei allen 3 Extrakten mit 9proz. Komplement gearbeitet.

Es besteht nach unserer Annahme die Möglichkeit, daß in dem eben besprochenen Falle eines der 3 Sera des negativen Mischserums beim Aufbewahren oder durch bakterielle Verunreinigung antikomplementäre Eigenschaften erworben hat; man könnte das Vorkommen von Fehlerquellen dieser Art vielleicht dadurch vermeiden, daß man nicht blos 3, sondern möglichst viele negative Sera mischt und diese Mischung zwecks Aufbewahrung keimfrei filtriert, um das Vorkommen von Eigenhemmungen durch bakterielle Infektion zu verhindern. Bisher hat sich dieses Vorgehen bei uns bewährt.

Die Reihen I—III der Zusammenstellung geben die Komplementminima an, die nach der Einwirkung des Gemisches von Extraktverdünnung und negativem Mischserum noch Hämolyse erzeugen. Man sieht, es ist nur 2mal gegenüber der Ziffer in Reihe V kein Unterschied vorhanden gewesen, an allen anderen Tagen aber ist das Lösungsminimum um 1—5 Proz. heraufgesetzt. Daraus ergibt sich, daß man mittels einer Komplementauswertung, wie sie unter Ziffer 7 der Anleitung vorgesehen ist (und wie sie im Prinzip auch in Reihe V ausgeführt wurde), den unbedingt notwendigen Komplementbedarf im Hauptversuch meist unterschätzen würde. Auch beim

Arbeiten mit diesem durch die Auswertung in den Reihen I—III ermittelten geringsten Komplementbedarf der Extrakt-Serummischungen bekommt man im Hauptversuch noch zuviel positive Ergebnisse unspezifischer Natur. Wir haben dann eine Zeit lang mit einem Komplementüberschuß von nur 1 Proz. gearbeitet, und auch dabei, wie erwähnt, soviel ± Ergebnisse erhalten, daß den Bedürfnissen der behandelnden Aerzte nicht gedient war. Seit Jahresfrist nehmen wir daher einen Ueberschuß von 2 Proz. und glauben damit den notwendigen minimalen Ueberschuß getroffen zu haben.

Addiert man diese 2 Proz. zu den in Reihe I—III verzeichneten Titerwerten hinzu, so ergibt sich, daß wir in 24 von 47 Versuchen bei allen 3 Extrakten auf eine geringere Komplementgebrauchsdoses als 10 Proz. gekommen sind, und daß an 12 Versuchstagen 10proz. Komplement nach dem Ergebnis der Auswertungsversuche nicht bei allen Extrakten ausgereicht hätte. In einigen Ausnahmefällen haben wir bei dem einen oder anderen Extrakt bis zu 16proz. Komplement heraufgehen müssen. Wenn man auch im Zweifel sein kann, ob solche schwachen Komplemente nicht besser ganz fallen gelassen werden sollten, haben wir andererseits in dem Ergebnis des betreffenden Versuchstages keine unbedingte Notwendigkeit dafür gefunden, und beispielsweise Komplemente, die in 10proz. Verdünnung nicht ausgereicht hätten, in der Dosis von 11 und 12 Proz. einwandfrei brauchbar befunden. Jedenfalls kann man sich durch den Komplementauswertungsversuch ein so deutliches Bild von der Leistungsfähigkeit eines Meerschweinserums bzw. von der antikomplementären Quote seiner Extraktverdünnungen machen, daß man sich schon vor der Ansetzung des Hauptversuches entscheiden kann, ob man Extrakt oder Komplement wechseln muß.

Was das Verhältnis der antikomplementären Quoten der 3 bzw. 4 benutzten Extrakte zueinander anlangt, so bestehen da geringere Unterschiede, als wir von vornherein erwartet hatten, und diese Unterschiede, wenn sie auftreten, verraten anscheinend keine Gesetzmäßigkeit mit Bezug auf die Art der Extraktbereitung. Offenbar spielen hier oft Zufälligkeiten mit, die erst bei der Verdünnung des Extraktes hineinkommen, auch wenn die Verdünnung jedesmal nach Vorschrift in anscheinend gleichmäßiger Weise erfolgt. Wir hatten zuerst geglaubt, daß sich bei besonders empfindlich eingestellten Extrakten regelmäßig ein stärkerer Eigenbedarf an Komplement zeigen würde. Das ist aber anscheinend nicht ganz regelmäßig der Fall. Wir sehen dagegen, daß gelegentlich bald die eine und bald die andere Extraktverdünnung zusammen mit dem negativen Mischserum eine auffallend starke antikomplementäre Wirkung gibt, die sich, wenn man mit 10proz. Einheitskomplement arbeiten würde, in häufigeren und unspezifischen positiven Reaktionen bei diesem Extrakt im Hauptversuch äußern müßte. Unsere Erwartung, daß man beim dauernden Arbeiten mit den gleichen bekannten Extraktnummern zu einer gewissen Gesetzmäßigkeit des Komplementzuschusses gelangen würde, und daß damit die regelmäßige Anstellung der Komplementauswertungsversuche I—III an jedem Versuchstage sich erübrigen würde, hat sich jedenfalls nicht erfüllt.

Wir glauben mithin aus diesen Ergebnissen schließen zu müssen, daß eine empirische Einheitsdosis des Komplements für jedes Extrakt oder für alle 3 verwandten Extrakte erhebliche Differenzen der Versuchsbedingungen im Hauptversuch zur Folge hat, so daß sich eine jedesmalige Auswertung des Komplements nicht umgehen läßt[1]). Wenn Klopstock, Pöhlmann, M. Stern u. a. bewiesen haben, daß bei dem Reaktionsausfall außerdem noch die mit dem hämolytischen Titer nicht immer parallel gehende Ablenkbarkeit der verschiedenen Komplemente eine bedeutende Rolle spielt, so scheint uns das nur in dem Sinne zu sprechen, daß eine alleinige Auswertung der hämolytischen Wirkung des Komplements nicht geeignet ist, die Reaktionsbedingungen der WaR. einheitlicher und schärfer zu gestalten. Wenn man dagegen die Auswertung unter Berücksichtigung der Antikomplementärwirkung von Extrakt und Serum vornimmt, dann wird die variable Deviabilität der Komplemente berücksichtigt, so daß man zu einer gleichmäßigeren Komplementdosierung und einer Verbesserung der Methodik gelangt.

Gegen die praktische Durchführbarkeit der Komplementauswertung in der obigen Form ist, weil sie von vornherein etwas umständlich erscheint, der Umstand, angeführt worden, daß die Dauer des ganzen Versuches dadurch zu sehr in die Länge gezogen wird. Tatsächlich ist es auch so, daß dieser Vorversuch 1 Std. Beobachtungszeit bei Wasserbadverwendung und 2 Std. bei Brutschrankverwendung beansprucht. Nehmen wir den Fall, daß ohne Wasserbad gearbeitet wird, so kann man rechnen, daß der Hauptversuch, wenn man die ausführbaren Vorbereitungen, wie Beschickung der Röhrchen mit Extrakt und Serum, in die Beobachtungspause zwischen Vorversuch und Hauptversuch legt, etwa 2 Std. nach Versuchsbeginn angesetzt und $4^1/_2$ Std. nach Versuchsbeginn abgelesen werden kann. Bei einem 8stünd. Arbeitstag hat man also auch bei unvorhergesehenen Störungen noch Spielraum genug, um die Ergebnisse abzulesen und schriftlich zu beantworten. Beim Arbeiten nach der Anleitung vom 17. Juli 1919 kann der Hauptversuch etwa 1 Std. nach Versuchsbeginn angesetzt werden. Es handelt sich bei Ersatz des Vorversuches B durch den oben besprochenen Komplementauswertungsversuch also nur um einen Zeitverlust von $^1/_2$ Std. Wenn man sich unter Fortlassung des Vorversuches B der Anleitung auf die Auswertung des Ambozeptors beschränkt, was anscheinend in vielen Anstalten bereits jetzt geschieht, dann ergibt sich allerdings eine Verzögerung von 2 Std. Man hat dann bei ungleichwertigen Komplementseren, die in unseren Meerschweinchenbeständen, wie gesagt, nicht selten waren, das Risiko, daß man bei Verwendung von 10proz. Einheitskomplement bald einen Mangel und bald einen unnötigen Ueberschuß hat.

Die weiteren Bedenken wegen Mehrarbeit und Mehraufwand an Material (Röhrchen, Extrakt und Komplement) dürften gegenwärtig keine so große Bedeutung mehr beanspruchen wie in der Inflationszeit,

---

1) **Gaehtgens** will das verschiedene Verhalten der einzelnen Extrakte bei der Komplementauswertung dadurch ausschalten, daß er bei der Auswertung eine indifferente Kontrollflüssigkeit (0,2proz. Cholesterinlösung) anstelle der Extrakte verwendet. Da wir Wert darauf legten, verschiedenartige und auch nicht cholesterinierte Extrakte heranzuziehen, haben wir diesen Vorschlag nicht näher geprüft.

sofern man nur die Ueberzeugung gewonnen hat, daß die Versuchsergebnisse durch die Komplementauswertung wirklich gegen bisher unkontrollierbare Fehlerquellen gesichert werden können.

Nun ein Wort zur Extraktfrage, die ja als der zweitwichtige Angriffspunkt für eine Verbesserungsmöglichkeit der amtlichen Anleitung gilt. Ziffer 4 der Anleitung verlangt, daß jede Probe mit mindestens drei verschiedenartigen Extrakten, darunter möglichst einem aus syphilitischer Leber gewonnenen, untersucht wird. Von diesen Extrakten sollen zwei staatlich geprüft sein, während das dritte ein ungeprüftes (vielleicht selbst hergestelltes) Extrakt sein kann, von dessen Zuverlässigkeit sich der Unternehmer hinreichend überzeugt hat.

Vielfach wird die Verschiedenartigkeit der Extrakte dahin ausgelegt, daß man verschiedene Herstellungsnummern desselben Erzeugnisses verwendet. Das ist natürlich nicht gemeint, sondern es ist gefordert, Extrakte verschiedener Herstellungsart in den Versuch zu bringen.

Wenn man in dieser Weise verfährt, dann ist eine Vermehrung der Extraktzahl auf 5, wie es in der Anleitung unter Ziffer 4 für besondere Fälle zwecks Sicherung der Ergebnisse vorgeschlagen ist, unseres Erachtens unnötig. Andererseits ist aber von Otto auf Grund der Erfahrungen in Kopenhagen die Anregung gegeben worden, die Zahl der zu verwendenden Extrakte auf 1 oder 2 herabzusetzen, um Material und Arbeit zu sparen. In letzter Zeit ist besonders Zeißler für die von Kaup angegebene Methodik eingetreten, bei der unter der Voraussetzung der Sicherung der Arbeitsweise durch Komplementauswertung auch nur ein einziges Extrakt verwendet wird. Unsere Erfahrungen darüber sind in folgenden Zahlen wiedergegeben:

Wir greifen aus unserem Material nur 33 Untersuchungstage heraus, weil an diesen Tagen neben der WaR. auch die MTR. angestellt werden konnte.

Es ergaben sich an diesen 33 Untersuchungstagen 200 Sera, bei denen mindestens 1 Extrakt positiv anzeigte.

Positive Reaktionen wurden dabei erzielt:

a) mit dem Luesleberextrakt Wassermann	152mal
b) mit dem cholesterinierten Rinderherzextrakt Sachs	171 „
c) mit dem cholesterinarmen Eigenextrakt	127 „
Die positive Reaktion war vorhanden	
d) mit 3 Extrakten	110 „
e) mit nur 2 Extrakten weitere	30 „
f) mit nur 1 Extrakt weitere	60 „

Die 60 Ergebnisse unter f) wurden nach der Vorschrift der amtlichen Anleitung als negativ bezeichnet.

Übereinstimmung war bei den 140 unter d) und e) angeführten Seren vorhanden:

zwischen dem Wassermann- und Sachs-Extrakt	128mal
„ „ Wassermann- und Eigenextrakt	114 „
„ „ Sachs- und Eigenextrakt	118 „

Es würden mithin beim Arbeiten mit nur einem Extrakt

unter Verwendung des Wassermann-Extraktes	42
„ „ „ Sachs-Extraktes	61
„ „ „ Eigenextraktes	17

positive Diagnosen mehr gestellt worden sein als unter der (fingiertten) Bedingung, daß bei der Abgabe einer positiven Diagnose 3 Extrakte positiv anzeigen müssen.

Es würden ferner beim Arbeiten mit nur einem Extrakt

unter Verwendung eines Wassermann-Extraktes	20
„ „ „ Sachs-Extraktes	35
„ „ „ Eigenextraktes	5

positive Diagnosen mehr gestellt worden sein, als wir es auf Grund der amtlichen Anleitung (positives Ergebnis mit 2 von 3 Extrakten) getan haben.

Neben der WaR. wurde bei den genannten 200 Seren die Meinicke-Trübungsreaktion (MTR.) mit inaktivierten Seren angestellt, die in 107 Fällen anzeigte.

Das positive Ergebnis bei der WR. wurde durch den Ausfall der MTR. bestätigt

g) in den 152 Fällen des Wassermann-Extraktes	94mal
h) in den 171 Fällen des Sachs-Extraktes	106 „
i) in den 127 Fällen des Eigenextraktes	89 „

Durch die MTR. bestätigt wurden

k) von den 110 Fällen mit 3 positiven Extrakten	86
l) von den weiteren 30 Fällen mit 2 positiven Extrakten	10
m) von den weitern 60 Fällen mit 1 positivem Fxtrakt	11

Übereinstimmung zwischen 2 Extrakten in positivem Sinne wurde durch die MTR. bestätigt

bei den 128 Fällen mit positivem Wassermann und Sachs-Extrakt	93mal
bei den 114 Fällen mit positivem Wassermann und Eigenextrakt	86 „
bei den 118 Fällen mit positivem Sachs- u. Eigenextrakt	89 „

Aus den Zahlen unter a—c ergibt sich zunächst, daß die cholesterinhaltigen Wassermann- und Sachs-Extrakte empfindlicher anzeigen, als das cholesterinarme Eigenextrakt. Ohne bezüglich der Wertigkeit jedes der drei verschiedenartigen Extraktarten weitere Schlüsse ziehen zu wollen, sei nur auf den Umstand hingewiesen, daß wir um so mehr positive Ergebnisse herausrechnen, je weniger Extrakte man der Beurteilung zugrunde legt, ausgedrückt durch die Verhältniszahlen 110:140:200 (d—f). Dabei zeigt sich weiter, daß auch die Kombination der zwei von uns als stärker empfindlich befundenen Extrakte (Sachs- und Wassermann) nicht alle Reaktionsmöglichkeiten erschöpft. (Uebereinstimmung des positiven Ergebnisses bei Wassermann- und Sachs-Extrakt 128mal, während wir 140 positive Diagnosen abgegeben haben.) Die Kombination zwischen dem höchst- und niedrigstempfindlichen unserer drei Extrakte (Sachs- und Eigenextrakt) würde noch weniger, nämlich 118 positive Diagnosen ergeben haben.

Unsere persönliche Ansicht neigt zwar auf Grund von Versuchen bei der experimentellen Kaninchensyphilis (veröff. im Festband zum 50jähr. Bestehen des R.-G.-Amts 1926) dahin, daß die größere Empfindlichkeit der cholesterinreichen Extrakte vielleicht auf einer gewissen „unspezifischen“ Quote beruht, daß mithin unter den 140 von uns als positiv abgegebenen Diagnosen einige zweifelhafte sein könnten, die sich auf die Empfindlichkeit der cholesterinhaltigen Wassermann- und Sachs-Extrakte beziehen, aber mangels genauer klinischer Verfolgung der betreffenden Krankheitsfälle können wir diese von Sachs, Gaehtgens u. a. nicht geteilte Vermutung bezüglich der syphilitischen Menschensera nicht beweisen. Wir müssen uns daher hier mit der Schlußfolgerung begnügen, daß eine Herabsetzung der Extraktzahl in der Anleitung für die WaR. von 3 auf 2 die Zuverlässigkeit der Ergebnisse beeinträchtigen würde. Vielleicht ist das später einmal möglich, wenn man künstliche Extrakte von chemisch genauer bekannter Zusammensetzung verwenden kann, wie es die Arbeit von Kiß in Aussicht stellt, so daß man es besser als bisher in der Hand hat, gleichmäßige optimale Extrakte darzustellen.

Man hat nun auch den Vorschlag gemacht, die Zahl der Extrakte bei der WaR. unter der Bedingung auf 2 oder 1 herabzusetzen, daß dieser Ausfall durch eine parallele Flockungs- oder Trübungsreaktion

ersetzt wird. Wir haben nach Möglichkeit die Meinickesche Flockungsreaktion parallel ausgeführt, und zwar mit inaktiviertem Serum, weil wir auf Grund von Beobachtungen bei Kaninchensyphilis zu der Ansicht gekommen waren, daß die Methode mit aktivem Serum zwar empfindlicher, aber etwas unspezifischer anzeigt (Manteufel und Beger, 1922). Wie aus der Zusammenstellung zu ersehen ist, wurde die positive Diagnose bei der Kombination Wassermann-Sachs-Extrakt in 128 Fällen 93mal, bei der Kombination Wassermann-Eigenextrakt in 114 Fällen 86mal, und bei der Kombination Sachs- und Eigenextrakt in 118 Fällen 89mal durch die MTR. bestätigt. Den 110 wassermannnpositiven Fällen, in denen alle drei Extrakte positiv reagierten, stehen 86 meinicke-positive gegenüber. So sehr wir von dem Bestätigungswert einer neben der Wassermannschen Reaktion ausgeführten Flockungsreaktion in Grenzfällen trotz aller hier zutage tretenden Zahlendifferenzen überzeugt sind, glauben wir doch nicht, daß unsere Ergebnisse dazu berechtigen, die Zahl der Extrakte bei der WaR. in Verbindung mit einer Meinickeschen Trübungsreaktion herabzusetzen.

Als Nebenbefund bezüglich der vor einiger Zeit von verschiedenen Seiten vorgeschlagenen Ausgestaltung der Liquordiagnose hätten wir aus unseren Ergebnissen noch mitzuteilen, daß durch die Inaktivierung des Liquors öfters eine Abschwächung der WaR. von ++ auf +, von + auf ± und einmal auch von + auf — eingetreten ist, niemals dagegen eine Umkehrung von — auf +[1]). Da wir kein Urteil darüber abgeben können, welches von zwei entgegengesetzten Liquorergebnissen das richtige ist, so scheint uns die Forderung von Eicke und Löwenberg, Förtig, Otto, die WaR. mit aktivem und inaktiviertem Liquor nebeneinander vorzunehmen, berechtigt.

Was den Ablauf der 1. Wassermann-Phase bei veränderter Temperatur und verlängerter Bindungsdauer anlangt, so wird der eine von uns (R.) demnächst Versuche mitteilen, aus denen hervorgeht, daß u. a. mit der von Zeissler empfohlenen Methodik ($^1/_2$ Std. bei 0° $^1/_2$ Std. bei Zimmerwärme und $^1/_2$ Std. bei 37° binden lassen) mehr positive Ergebnisse erzielt werden, als bei der gleichzeitig angestellten $^1/_2$stünd. Bindungsdauer von 37°. Bei der gleichen Methodik wurden aber auch die vergleichsweise mitlaufenden normalen Kaninchensera, die bei unserer üblichen Methodik negativ reagierten, teilweise positiv, so daß sich also die Möglichkeit einer unspezifischen Reaktionsverstärkung nicht von der Hand weisen läßt. Es scheint uns daher vorläufig nicht angebracht, von der bisher üblichen Methodik der Bindung bei 37° abzugehen.

Das Bedürfnis nach einer gewissen Vereinheitlichung der Methodik für die serologische Syphilisdiagnose hat sich anscheinend nicht nur in Deutschland, sondern auch anderswo bemerkbar gemacht. Ueber die Arbeiten des Hygieneausschusses beim Völkerbund auf diesem Gebiete haben Otto und Sachs berichtet. Die Ergebnisse dieser Arbeiten sind bei den vom Reichsgesundheitsrat eingeleiteten Untersuchungen betr. Abänderung der amtlichen Anleitung für die WaR. bereits berücksichtigt.

---

1) Wir legen hier die Notiz der Befunde mit den von der Hygiene-Organisation des Völkerbundes zwecks Vereinfachung vorgeschlagener Zeichen ++, +, ±, — zugrunde, die uns anerkennbar scheint.

Schon 1918 hat das Medical Research Council in London vier verschiedene Methoden der WaR. als zuverlässig und empfehlenswert bezeichnet und den Untersuchern zur Wahl gestellt. 1920 befürwortete das englische Gesundheitsministerium eine von Griffith und Scott ausgearbeitete Methode, die in ihren wesentlichen Grundzügen 1922 auch von Kolmer in den Vereinigten Staaten empfohlen wurde. Allgemeine Billigung und Verbreitung hat aber die Kolmersche Methode in den Vereinigten Staaten nicht gefunden, sondern ist teilweise durch andere Methoden, wie die von Craig und von Noguchi verdrängt worden. Seitdem bemüht man sich in den Vereinigten Staaten um die Einigung der Serologen auf eine „Standardmethode". Ein von der Vereinigung amerikanischer Bakteriologen eingesetzter Ausschuß unter dem Vorsitz von Craig hat keinen Fortschritt in der Frage erzielt. 1924 legten Ruth Gilbert und Virginia Langworthy dem Standardisierungsausschuß der amerikanischen Gesellschaft für öffentliche Gesundheitspflege Richtlinien für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion vor, die 46 Zentrallaboratorien in den Vereinigten Staaten zur Aeußerung zugegangen waren. Die wichtigsten Forderungen dieser Richtlinien bezüglich der Methodik sind in Kürze folgende: Patientenserum mindestens in der Verdünnung 1/5 verwenden, Liquor mindestens in einfacher oder besser doppelter unverdünnter Dosis, und zwar letzteren $^1/_2$ Std. bei 55° inaktiviert wie bei Blutserum. Mindestens zwei Antigene verwenden, und zwar vorzüglich alkoholisches Rinderherzextrakt mit und ohne Cholesterinzusatz. Die Gebrauchsdosis des Antigens sollte nicht größer sein als $^1/_4$ der hämolytischen oder antikomplementären Dosis und mit negativem Serum keine, mit positivem mindestens noch in der halben Dosis Komplementbindung geben. Mischkomplement von mindestens 3 Meerschweinchen, vorzugsweise von männlichen, um gravide Tiere auszuschließen; es darf nicht später als 48 Std. zur Verwendung kommen. Die Gebrauchsdosis des Komplements soll einen kleinen Ueberschuß über das Minimum darstellen, das mit Extrakt und negativem Serum die Hämolyse nicht beeinträchtigt. Blutkörperaufschwemmung auf Blutzellensediment berechnen. Hämolytischen Ambozeptor vom Pferd, Maultier oder Kaninchen gewinnen, inaktivieren und mit 50 Proz. Glyzerin konservieren. Als Titer des Ambozeptors wird das Durchschnittsergebnis der Titrationen mit mindestens 5 verschiedenen Komplementen angegeben[1]). Die Gebrauchsdosis des Ambozeptors darf die Blutzellen nicht agglutinieren und muß möglichst 1/2000 betragen. Die erste Phase des Hauptversuches wird am besten durch 4stünd. Bindung bei 0—6° vorgenommen, aber diese Forderung scheint den beiden Referenten nicht so wesentlich zu sein. Wird die Bindung bei 37° im Wasserbad vorgenommen, dann darf sie nicht weniger als $^1/_2$ Std. betragen. Extraktkontrollen in einfacher und 4facher Gebrauchsdosis (die letztere darf weder antikomplementär noch hämolysierend sein). Serum- bzw. Liquorkontrollen und positive Standardkontrollen mit einem komplett und einem partiell hemmenden positiven Serum. Weiter-

1) Dieser Punkt wäre auch bei der staatlichen Prüfung und Titerfestsetzung der Ambozeptoren zu berücksichtigen, da, wie Herr Dold-Marburg mündlich dem einen von uns mitgeteilt hat, diese amtliche Titerfeststellung öfter zu Differenzen zwischen den Serumherstellern und den Abnehmern führt.

hin durch Untersuchungen zu prüfen bleibt nach den Ausführungen der beiden Verff., ob sich Ringerlösung oder eine gepufferte physiologische Lösung als Verdünnungsmedium besser eignet als isotonische Kochsalzlösung; ob sich durch fallende Serumdosen eine quantitative Ablesung erzielen läßt; ob sich eine Standardtechnik der Antigenherstellung und -verdünnung finden läßt; ob man nicht nur die hämolytische, sondern auch die ablenkende Wirkung des Komplements titrieren muß u. a. m.

Das Ergebnis der Umfrage bei den Zentrallaboratorien ging dahin, daß eine Zweidrittelmehrheit die Standardisierung für wünschenswert bezeichnete, im einzelnen ergaben sich aber so große Differenzen bezüglich der technischen Punkte, daß eine Einigung auf eine einzige Methode nicht möglich war und einem weiteren Untersuchungsplan vorbehalten bleiben muß, der demnächst in Angriff genommen wird.

Von neueren Arbeiten erwähnen wir nur noch die Untersuchungen von Oluf Thomsen in Kopenhagen über die Standardisierung der Wassermannschen Reaktion, die ebenfalls auf eine sehr genaue quantitative Komplementauswertung hinausläuft, aber hier nicht genauer erörtert zu werden braucht, weil dieser Auswertung ganz andere Gesichtspunkte zugrunde gelegt sind.

Quellenangaben.

1) Bordet, J., et Ruelens, G., Compt. rend. Soc. Biol. T. 82. 1919. p. 880. — 2) Dold, H., u. Klinkhart, G., Arb. a. d. Staatsinstit. f. exp. Ther. 1922. H. 15. S. 21. — 3) Eicke u. Löwenberg, E., Med. Klin. 1921. S. 414. — 4) Förtig, H., Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 147. 1924. S. 246. — 5) Gaehtgens, W., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. 1922. S. 1. — 6) Gilbert, R., a. Langworthy, V., Amer. Journ. Publ. Health. März 1925. (Abdr. in „Stud. from the Division of Laborat. and Research. New York State Dep. of Health". Reprints. 1923/25. p. 201. — 7) Griffith, F., a. Scott, W. H., Rep. Publ. Health and Med. Subj. Ministr. of Health. 1920. Nr. 1 u. 7. — 8) Kiss, J., Zeitschr. f Immunitätsf.. Bd. 44. 1925. S. 423. — 9) Klopstock, A., Ibid. Bd. 41. 1924. S. 126. — 10) Kolmer, J. A., Amer. Journ. Syphilis. 1922. 6. — 11) Manteufel, P., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924. S. 306; Vortr. Dtsch Gesellsch. f. Mikrobiol. — 12) Ders., u. Beger, H., Dtsch. med. Wochenschr., 1924. S. 269. — 13) Munter, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 183. — 14) Otto, R., Klin. Wochenschr. 1925. S. 1312. — 15) Poehlmann, A., Münch. med. Wochenschr. 1925. S. 222. — 16) Sachs, H., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 40. 1924. S. 179. — 17) Stern, M., Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 397. — 18) Thomsen, O., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 44. 1925. S. 192. — 19) The Wassermann Test. (Med. Res. Council. Spec. Rep. Ser. 1918. No. 14.)

Pathogenität und Einteilung der Staphylokokken.

[Aus dem Laboratorium des Rotenkreuzspitals (Chefarzt: J. v. Darányi) und dem Bakteriolog. Institut der vet. Hochschule (Dir.: Prof. Aujeszky) in Budapest.]

Von Universitätsdozent Dr. **J. v. Darányi.**

Die Staphylokokken sind die am meisten verbreiteten Mikroorganismen der Umgebung des Menschen. Sie stammen, als ständige Bewohner der Oberhaut, von der Epidermis ab und gelangen durch die Abschilferung der Schuppen fortwährend in die Umgebung, wie ich dies durch qualitative bakteriologische Untersuchungen der Luft nachgewiesen habe (1). Bei diesem ubiquitären Vorkommen der Staphylokokken ist die Frage der Pathogenität sehr wichtig, besonders, wenn

man bedenkt, daß die Staphylokokkeneiterungen vielleicht die größte Zahl aller Erkrankungen ausmachen, wie es das häufige Vorkommen von Furunkeln, Panaritien usw. beweist.

Mit Rücksicht auf die weite Verbreitung der harmlosen St. auf der menschlichen Körperoberfläche und in der Umgebung, tritt sehr oft der Fall ein, daß festzustellen ist, ob im Blute, Serum, Urin und anderen Untersuchungsobjekten (so in Impfstoffen, Nahrungsmitteln, wie Milch usw.) gefundene St. Krankheitserreger sind? Bei der Venaepunktion, beim Oeffnen von Abszessen können schon beim Durchstechen der Haut St. hineingelangen. Im tuberkulösen Auswurf, im Harnröhrensekret etc. finden wir oft St., von welchen dann zu entscheiden ist, ob nur eine einfache Anwesenheit der Kokken, oder vielleicht eine sekundäre Infektion vorliegt. Infolge der Vernachlässigung der Verwendung der entsprechenden Verfahren ist es zu erklären, daß bis zur neuesten Zeit oft von äußerlicher Verunreinigung herrührende St. als Krankheitserreger beschrieben worden sind. Auch Schottmüller (2) weist darauf hin, daß auf Blutagar oft St. sich entwickeln, von welchen wir dann nicht wissen und auch nicht zu entscheiden vermögen, ob sie pathogen sind oder nicht.

Fermentbildungen. Seit den ersten grundlegenden Untersuchungen von Ogston, Rosenbach und Lingelsheim (3) ist viel über die Pathogenität geschrieben worden, ohne daß aber eine genügende Vergleichung und kritische Sichtung der verschiedenen Methoden vorgenommen worden wäre. Das älteste Verfahren der Differenzierung ist wohl die Hämolysinbildung. Dieselbe wird neuerlich nur durch Hofbildung auf einer Blutagarplatte nachgewiesen. Anfänglich, als man noch größere Blutmengen, so z. B. Jochmann (4), ein Drittel zu zwei Drittel Agar, mischte, war man der Ansicht, daß nur pathogene Eiterstaphylokokken Hämolyse erzeugen (Neisser, Koch (3), Noguchi (5)]. Als man später mit der zugesetzten Blutmenge herunterging, fand man, daß nicht nur pathogene Arten, sondern auch saprophytisch wachsende Kokken hämolytisch wirken können [Axenfeld (6), Dreier, Notmann (3)]. In meinen Versuchen fand ich, daß das Zustandekommen des hämolytischen Hofes außer der hämolysierenden Wirkung der St., von der Art und Menge des verwendeten Blutes in hohem Maße abhängt (7). Von den untersuchten Blutarten gibt Kaninchenblut am leichtesten Hämolyse, schwerer das Menschenblut, noch schwerer Pferdeblut. Die Wichtigkeit der zugesetzten Blutmenge zeigte mir ein Versuch, bei welchem ich mit einer 25proz. Kaninchenblutagarplatte in der Luft eines Dampfbades 10 Proz. hämolytische St. (unter den übrigen Staphylokokkenarten) mit 10proz. Blutagar 15 Proz. und mit 1prozentigem sogar 57 Proz. hämolytische St. nachwies.

Schottmüller (2) fand oft, im Gegensatz zu den meisten anderen Autoren, bei pathogenen Arten keine Hämolyse. Der Grund hierfür ist aber der, daß er 2 ccm Krankenblut mit 5 ccm Agar vermischt hatte. Er arbeitet also mit einer verhältnismäßig großen Menge des schwer hämolysierbaren Menschenblutes, und zwar mit Krankenblut, welches Antilysine in noch höherem Maße enthalten kann.

Bei Feststellung des hämolytischen Vermögens ist also immer auch die Blutart und die Menge des zugesetzten Blutes anzugeben. Um die Frage zu entscheiden, ob ein Stamm Hämolyse zeigt oder nicht, halte ich es für das beste, die fragliche Kolonie auf 1proz. Kaninchenblut-

agarplatte aufzustreichen und die Hofbildung zu beobachten. Die Anfertigung der 1proz. Kaninchenblutagarplatte werden wir später beim Zitratblutversuch beschreiben. Mit 1proz. Kaninchenblutagar gaben alle untersuchten pathogenen St. (30 Stämme) Hämolyse. Der Prozentsatz der hämolytischen St. an 10 verschiedenen Orten der Umgebung betrug 20—60, auf der Hautoberfläche von 15 gesunden Menschen 30—70. Während also bei dieser Untersuchung das Fehlen der Hämolyse gegen die Pathogenität spricht, ergeben andererseits die Umgebungsstaphylokokken in einem viel höheren Prozentsatz Hämolyse, wie nach den Angaben anderer Autoren [J. Koch 10 Proz., Geisse 5 Proz., (3)], die mit größerer Blutmenge oder anderer Blutart arbeiteten. Die Hämolyse mit 1proz. Kaninchenblutagar stellt die feinste Methode der Hämotoxinprüfung dar, welche auch den Nachweis der geringsten hämlytischen Wirkung ermöglicht.

Von den übrigen Fermentreaktionen hat sich bei meinen Versuchen die Milchgerinnung gut bewährt. Die Gelatineverflüssigung habe ich auch probiert, aber bald wieder aufgegeben, da sie mit der Pathogenität nicht genügend parallel verlief. 10 nichthämolysierende Stämme gaben auch keine Milchgerinnung. Von 40, aus der Umgebung gezüchteten mehr oder weniger hämolytischen Stämmen gaben 20 Milchgerinnung und 2 Gerinnung und auch Peptonisierung. Diese Peptonisierung des Kaseins zeigt sich darin, daß das retrahierte Milchkoagulum eingebuchtet und zackig erscheint. Von 30 aus verschiedenen Eiterungsprozessen stammenden St. gaben 29 Milchgerinnung, dabei 27 auch Peptonisierung. Milchgerinnung zeigte sich nach 1—7tägigem Aufenthalt im Thermostat. Von den 30 Eiterstaphylokokken riefen 21 Stämme schon während den ersten 3 Tagen Gerinnung hervor. Bei den 22 Umgebungsstaphylokokken trat die Milchgerinnung bei 17 erst nach 4 bis 7 Tagen ein und nur bei 5 während der ersten 3 Tage.

Aus diesen Versuchen ergibt es sich, daß die Milchgerinnung im allgemeinen eine stärkere biochemische Aktivität anzeigt, als die Hämolyse und daß bei den pathogeneren Arten außer Gerinnung auch Peptonisierung des Kaseins auftritt. Das zeitliche Auftreten der Gerinnung erfolgt bei pathogenen Arten schneller als bei den saprophytischen. Bei gänzlich apathogenen Arten, die keine Hämolyse geben, tritt gewöhnlich auch keine Milchgerinnung auf. Dieselbe kann aber hie und da auch bei den stark pathogenen und hämolysierenden Arten fehlen.

In den Thermostat sind immer einige Kontrollmilchröhrchen einzustellen, weil die Milch bei mangelhafter Sterilisierung auch unbeimpft gerinnen kann. Die Sterilisierung erfolgt fraktioniert an 3 aufeinanderfolgenden Tagen.

Die St. haben noch eine andere wichtige fermentative Wirkung, nämlich die Gerinnung des Zitratplasmas. Obwohl diese Eigenschaft schon von mehreren Autoren [Much (8), v. Gonzenbach und Uemura (9), Gratia (10)] näher untersucht wurde, hat man bisher die große Wichtigkeit dieser Untersuchungsmethode bezüglich der Pathogenität nicht erkannt. Ich habe in dieser Wirkung ein wichtiges Unterscheidungsmittel gefunden, welches immer viel mehr besagt und viel regelmäßiger verläuft, als die übrigen fermentativen Eigenschaften. Während nämlich 80 verschiedene, aus der Umgebung und von der gesunden Haut stammende Staphylokokken diese Fermentreaktion nicht ergaben, reagierten 30 aus verschiedenen Eiterungsprozessen gezüchtete St. positiv. Nur bei den aus ganz oberflächlichen, kleinen Eiterungen (wie Akne) herrührenden St. albi fehlt die Zitratblut-

gerinnung. Von diesen St. ist es aber nicht immer erwiesen, daß sie wirkliche Krankheitserreger sind. Es können nämlich bei diesen kleinen Hauteiterungen wegen der Nähe der Hautdrüsen und oberflächlichen Hautschichten zufälligerweise saprophytische St. in großer Zahl anwesend sein, wenn auch sonst eine andere Aetiologie vorliegt (Brom-, Jod-, juvenile Akne).

Die Zitratblutgerinnung ist aber nicht nur bei Aureusstämmen zu beobachten (Much, Gonzenbach etc.), sondern auch bei St. albi, wie dies Assistent Dr. Buzna im bakteriologischen Institut bei tierischen Eiterungen, welche er auf meine Veranlassung untersuchte, gefunden hat. Ueber seine Resultate wird Buzna in einem selbständigen Artikel berichten. Soviel kann aber vorausgeschickt werden, daß bei menschlichen Eiterungen, in gewissem Gegensatz zu den tierischen, vorwiegend St. aureus gefunden wird. Ich traf in 30 menschlichen Eiterungen (so in Furunkeln, Mastitiden, Panaritien) immer Aureusstämme an.

Zum Nachweis der Zitratblutgerinnung verwandte ich Kaninchenblut, das ich durch Herzpunktion immer frisch entnahm. Zuerst nahm ich in die Spritze bis zur Hälfte sterile 2proz. Natr. citr. enthaltende physiol. Kochsalzlösung auf und dann in die restliche Hälfte aus dem Kaninchenherzen Blut. Von diesem Zitratblut gab ich $^1/_2$—1,0 ccm in eine Eprouvette und schwemmte in diesem Gemisch eine Normalöse Agarkultur auf. Nach einem Aufenthalt von 3—6 Std. im Thermostat oder 24 Std. bei Zimmertemperatur tritt die Gerinnung ein, wenn es sich um krankheitserregende St. handelt. Die Zitratlösung gewinnen wir aus einer Stammlösung von 20proz. Na. citr. und 8,5proz. Na. chlor. Von derselben machen wir vor Gebrauch eine Verdünnung 1:10 mit destill. Wasser, welche wir nachher über der Flamme durch Aufkochen sterilisieren. Wichtig ist die unmittelbare Mischung der Zitratlösung mit dem Blut, noch in der Spritze. Bei nachherigem Mischen des entnommenen Blutes mit Zitrat bekommt man weniger verläßliche Reaktionen, da schon die geringste Umwandlung im Fibrin störend wirkt. Das Entfernen der Blutkörperchen durch Zentrifugieren ist nicht nötig, da die Anwesenheit der Erythrozyten den Versuch nicht stört. Das so entnommene Zitratblut ist auch zum Blutagar zu verwenden, indem wir 2 Proz. von dieser Mischung hinzusetzen, um eine 1proz. Blutagarplatte zu erhalten.

Beim Auftreten der obigen Fermentwirkungen sehen wir eine gewisse Reihenfolge, mit welcher die biochemische Aktivität bzw. Pathogenität parallel geht. Zuerst tritt Hämolyse, dann Milchgerinnung und bei weiterer Steigerung der Fermentaktivität Zitratblutgerinnung auf.

Tierversuch. Die beschriebenen Fermentwirkungen orientieren uns aber nur im allgemeinen über die Pathogenität. Sichere Antwort hierauf erhalten wir nur durch den Tierversuch. Diesbezüglich ist das Kaninchen als das geeigneteste Tier anerkannt. Die klassische Impfmethode ist die endovenöse Impfung. Da aber für die St. eben die Eitererregung charakteristisch ist, versuchte man schon seit langem diese Wirkung im Tierversuch hervorzurufen. Die kutane Infektion, Einreibung in die Haut, ist meist wirkungslos. Ebenso ist auch die subkutane Impfung mit Bouillonkultur oder Agaremulsion nicht zu verwenden. Lingelsheim (3) impfte Kaninchen intramuskulär, wobei Muskelabszesse entstanden, Dreier (11) endoartikulär, wobei Vereiterungen des Gelenkes auftraten. Kasahara (12) erhielt bei intrakutaner Impfung Rötung und Hautabszesse.

Bei meinen Versuchen habe ich das folgende Impfverfahren am einfachsten befunden:

Bei dem in der Rückenlage gehaltenen Kaninchen werden die Haare an der Innenseite des Hinterschenkels abgeschoren, dann wird die Haut mit einer Pinzette

aufgehoben und mit der Schere ca. $^1/_2$ cm lang eingeschnitten. Die so entstandene Tasche wird mit der Pinzette noch ca. 1—2 cm unter der Haut vertieft. In diese Tasche geben wir eine Normalöse Agarkultur in substantia. Das Verfahren ist einfach und geht, sorgfältig ausgeführt, mit keiner Blutung einher. Dasselbe Kaninchen ist zu mehreren Versuchen oder wiederholt nicht zu verwenden. Andere Tiere sind bei Anwendung dieser Infektionsart nicht zu gebrauchen.

Bei apathogenen Bakterien (Saccharomyces cerevisiae, Sarcina lutea und alba, Micrococcus cinnabareus, B. lactis aërogenes) und bei St., die keine fermentativen Eigenschaften (Hämolyse, Milchgerinnung, Zitratblutgerinnung) zeigten, heilte die Wunde nach 2—3 Tagen glatt, ohne Schwellung und ohne Eiterung zu. Verwendete ich aber St. aus Eiterprozessen (15 Stämme), so entstand nach 2—3 Tagen Schwellung, eiternde Fistel, Geschwür oder Nekrose, welch letztere von dem Toxin des St. erzeugt wird. Diese Nekrose ist meistens an einer gelben Verfärbung der Haut zu erkennen, welche davon herrührt, daß das nekrotische Gewebe den gelben Farbstoff des St. in sich aufnimmt. Die Nekrosebildung ist meist nur bei frisch, direkt aus Eiter herausgezüchteten St. zu beobachten. Bei mehreren Uebertragungen auf Agar entsteht nur Schwellung und Eiterbildung nach 2—3 Tagen. Eine Zwischenstellung nahmen die sogenannten pathogenen St. der Haut und Umgebung ein, die fermentative Eigenschaften (Hämolyse, Milchgerinnung ohne Zitratblutgerinnung) zeigten. Es wurden 4 Stämme von Haut- und 2 von Umgebungstraubenkokken verwandt. Hier heilte die Wunde nach 2—3 Tagen zu, brach aber nach 6—10 Tagen wieder auf und es begann eine mäßige Schwellung und Eiterung. Die Inkubation der Eitererregung ist also hier bei diesen St. verlängert.

Einteilung. Versuche, die St. auf Grund der Farbenbildung, sodann des Abbaues der verschiedenen Zuckerarten (Gordon, 13) einzuteilen, waren erfolglos. Menschen- oder tierpathogene sowie apathogene St. findet man nämlich sowohl bei den Albus- wie bei den Aureus- und Citreusstämmen. Eine praktische Einteilung kann aber auf Grund der biochemischen Aktivität erfolgen.

Bisher hat man hauptsächlich hämolytische und anhämolytische St. schieden, woraus man einen gewissen Schluß auf die Pathogenität gezogen hat. Nach den Untersuchungen von Nicolas und Lésien (14), Kolle, Otto, Noguchi (3), Geisse (15) kann man auch die Agglutination zur Unterscheidung der Staphylokokkenstämme anwenden. Nach Beitzke, J. Koch (15), Ficker (16) ist aber die Agglutination weniger verläßlich, weil einerseits pathogene Eiterkokken manchmal inagglutinabel sind, andererseits die Agglutination mit der Pathogenität nicht parallel verläuft.

Ich habe schon darauf hingewiesen, daß mit der Zunahme der Pathogenität auch gewisse Fermentbildungen in bestimmter Reihenfolge auftreten und die Inkubation der Eiterbildung bei Kaninchen sich entsprechend verkürzt. Die angegebenen Fermentwirkungen, wie Hämolyse, Milchgerinnung, Milchpeptonisierung, Zitratblutgerinnung und die angegebene Kaninchenimpfung habe ich den übrigen Verfahren (Gelatineverflüssigung, Agglutination, andere Methoden der Tierversuche) als überlegen befunden. Von diesem Gesichtspunkte aus machte ich eine neue Einteilung, nach welcher die St. im allgemeinen in 3 Gruppen eingereiht werden können:

In die erste Gruppe gehören die fermentlosen saprophytischen

St. der Haut und Umgebung, die keine Hämolyse, Milch- und Zitratblutgerinnung zeigen und beim Kaninchen keine Eiterung erzeugen.

In der zweiten Gruppe befinden sich die fermentbildenden saprophytischen St. der Haut und Umgebung mit Hämolyse, Milchgerinnung (bei den stärkeren Fermentbildnern manchmal auch Peptonisierung). ohne Zitratblutgerinnung und mit Eiterung im Kaninchenversuch erst nach 6—10 Tagen Inkubation.

In die dritte Gruppe gehören die fermentbildenden parasitischen St. der Eiterungsprozesse, die meist starke Hämolyse, Milchgerinnung, meistens auch Peptonisierung geben, das Zitratblut koagulieren und im Kaninchenversuch Eiter oder Nekrosebildung in 2—3 Tagen verursachen.

Bei der Beurteilung der Gruppenzugehörigkeit ist der Tierversuch und die Zitratblutgerinnung am wichtigsten, weil sie immer am regelmäßigsten verlaufen. Da ich in meinen Versuchen bei größeren Eiterungsprozessen nur die 3. Gruppe fand und bei Haut- und Umgebungsstaphylokokken nur die 1. und 2. Gruppe, so muß ich annehmen, daß die bisher in der Umgebung und Haut gefundenen (in ca. 5—20 Proz.), auf Grund der Hämolyse und Agglutination für pathogen gehaltenen St. außer der Virulenzsteigerung auch gewisse biologische Umwandlungen (Bildung von Zitratblutkoagulase) erfahren müssen, um Eiterungen, wie Furunkel, Mastitiden, Panaritien etc. hervorrufen zu können. Diese Umwandlung der an Ort und Stelle befindlichen St. kann nur im Falle einer Disposition, und zwar im nekrotischen, nekrobiotischen oder in seiner Resistenz herabgesetzten Gewebe erfolgen. Seltener geschieht eine direkte Infektion mit Staphylokokkeneiter.

Zusammenfassung.

1) Im Zitratblutgerinnungsvermögen habe ich eine wichtige pathogene Eigenschaft erkannt. Dieses besitzen nur St. aus Eiterungsprozessen. — 2) Die biochemische Aktivität bzw. Pathogenität steigt im allgemeinen parallel an, mit dem Auftreten der Hämolyse (mit 1proz. Kaninchenblutagar), Milchgerinnung und Zitratblutgerinnung. — 3) Die Pathogenität wird auch durch Eitererregung mit einer neuen Methode der Kaninchenimpfung bestimmt. — 4) Die St. werden nach dem Tierversuch und Fermentaktivität in drei Gruppen eingeteilt, nämlich in die der fermentlosen (1), der fermentbildenden Saprophyten (2) und der Eiterparasiten (3).

Literatur.

1) Darányi, Arch. f. Hyg. u. Term. tud. közl. [ung.] 1925. — 2) Schottmüller, Kulturmethoden. 1923. — 3) Kolle-Wassermanns Handb. Bd. 4., und H. v. Preisz, Bakteriologie. 1899 [ung.]. — 4) Lehrb. d. Infektionskrankh. 1914. — 5) Arch. f. klin. Chir. Bd. 99. — 6) Bakteriologie in der Augenheilk. — 7) Darányi, ausführl. in Pathologie der Staphylokokken ersch. ung. Magy. o. archivum (1926). — 8) Bioch. Ztschr. Bd. 14. — 9) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 78. 1916. — 10) Compt. rend. soc. de Biol. T. 83. 1920. p. 584. — 11) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. S. 106. — 12) Ibid. Abt. I. Orig. Bd, 72, 1914, S. 540. — 13) Ibid. Abt. I. Ref. Bd. 42. S. 583. — 14) Compt. rend. soc. de Biol. 1910. — 15) Ztschr. f. Hyg. Bd. 76. 1913. S. 282. — 16) Friedberger-Pfeiffers Lehrb. d. Mikrobiologie. 1919.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Aetiologie der postvaccinalen Lähmungen nach Wutschutzimpfungen.

Von Dozent Dr. **B. Busson.**

Vorstand der bundesstaatlichen Schutzimpfungsanstalt gegen Wut in Wien.

In letzter Zeit sind zwei Arbeiten erschienen, die auf Grund positiver Übertragungen des Lyssavirus von nach Wutschutzimpfung verstorbenen Menschen auf Kaninchen das ganze Problem der postvakzinalen Lähmungen neuerdings aufrollen und zur Diskussion stellen.

Die eine von G. Quast aus Breslau (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. H. 1) behandelt einen Fall, der sich kurz folgendermaßen schildern läßt.

Ein 33jähriger Kaufmann, der von einem nicht auf Wut untersuchten Hunde geleckt wurde, erkrankte am 14. Tage der Schutzimpfung an Kopfschmerzen und Erbrechen, so daß mit der Impfung ausgesetzt wurde. 2 Tage später Nackensteifigkeit, in kurzen Intervallen Schüttelfröste. Die Pupillen reagieren prompt, Reflexe sehr lebhaft, Babinski negativ. Starke Nackenschmerzen, Opisthotonus, Kernig ausgebildet, Tremor des Unterkiefers, Wasser wird geschluckt, aber dann heftige Brech- und Würgbewegungen. Nonne-Apelt positiv, Zellen 700 pro ccm, im Blut 14800 Leukozyten. Nach 2tägiger Erkrankung treten nachts Krämpfe aller Extremitäten und früh Exitus ein. Die Temperatur war bis auf 40,4 gestiegen.

Die Sektion ergab: Meningitis tuberculosa. Mit dem Amonshorn wurden Kaninchen einerseits subdural, andererseits intramuskulär geimpft. Während die letzteren gesund blieben, erkrankte ein Tier von den beiden subdural geimpften Kaninchen am 5. Tag unter den Symptomen der Erkrankung durch Virus fixe und von diesem Tiere gelangen weitere Uebertragungen. Die Untersuchung auf Negri-Körperchen fiel stets negativ aus.

Quast legt sich nun die Frage vor, ob das Vorkommen von Virus fixe im Gehirn schutzgeimpfter Personen konstant sei, oder ob im vorliegenden Falle lediglich die bestehende tuberkulöse Meningitis das Gehirn zu einem locus minoris resistentiae gemacht habe, so daß das Virus fixe besser haften konnte.

Angeregt durch die von Paltauf vertretene Ansicht, daß sich Lyssavirus längere Zeit im Zentralnervensystem halten könne, ohne Erscheinungen zu machen, und auf Grund des beobachteten Falles impfte Quast Hunde mit Virus fixe und konnte durch gelungene Übertragungsversuche des Hirns der gesunden Hunde auf Kaninchen den Nachweis erbringen, daß sich das Virus fixe tatsächlich im Zentralnervensystem, wenn auch jeweils in verschiedener Menge bei geimpften Hunden nachweisen läßt, ohne daß es zu Krankheitserscheinungen gekommen war. Quast schließt demnach, daß das Virus fixe seinen Weg ins Zentralnervensystem nimmt und dort latent bleibt, bis es schließlich abgebaut wird. Er glaubt ferner annehmen zu dürfen, daß das im Zentralnervensystem liegende Virus fixe eben dieses Organ selbst zur Antikörperbildung anregt, die dann eventuell hingelangendes Straßenvirus binden[1]).

1) Mit dieser Auffassung steht die Tatsache im Widerspruch, daß es noch nicht gelungen ist, Versuchstiere so zu immunisieren, daß sie bei intraduraler Reinfektion gesund geblieben wären.

Die 2. Arbeit stammt aus Bandoeng in Java von J. van den Hoven van Genderen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 105. H. 2), der wir zunächst entnehmen, daß bei den Impfungen im dortigen Institute auf 13396 Impflinge 21 Fälle von postvakzinalen Lähmungen vorkamen, unter denen 19 Europäer waren. Von 1895 bis 1906 wurde nach dem Verfahren Pasteurs und seit 1906 nach jenem von Högyes geimpft. Van den Hoven weist nun aus der Statistik nach, daß sowohl zu Anfang der Pasteur-Impfung bis 1900 und ebenso bei der 1. Högyes-Methode keine Lähmungen vorgekommen sind. Diese kamen in beiden Fällen erst zur Erscheinung, als intensivere Impfmethoden angewendet wurden, resp. als bei der Pasteurschen Methode mit der Impfung des eintägigen Trockenmarkes zu früh, und zwar am 4. Tage, begonnen wurde, oder die Högyes-Impfungen zu stark dosiert und die Intervalle zu sehr gekürzt worden waren.

Van den Hoven bespricht 19 postvakzinale Lähmungen, von denen 12 gebissen, 5 geleckt, 2 aber sicher nicht mit tollwutkranken Tieren in Berührung gewesen waren. Von diesen starben insgesamt 5 Personen, 3 davon, die uns deshalb besonders interessieren, kamen zur Obduktion.

1) Fall im Jahre 1900. Ein Seemann, wahrscheinlich von einem tollen Hunde gebissen, wird nach Pasteur geimpft. Die ersten Krankheitserscheinungen 9 Tage nach der Impfung. Fieber, Schmerzen im Bauch, Paraesthesien, nach 2 Tagen Retentio urinae et alvi, Knie- und Fußsohlenreflexe gesteigert, Hyperästhesien an Beinen und Bauch. Schwere Cystitis. Obduktion: Tbc. in verschiedenen Organen, diphtheritisch-nekrotische Zystitis. Hirn und Rückenmark normal, keine Erweichungen. Uebertragungsversuche negativ.

2) Der 2. Fall betrifft einen 12jährigen Knaben, der 1912 von einem Affen gebissen wurde, der sich frei in den Gartenbäumen aufhielt und nach dem Biß längere Zeit verschwunden war. Er soll sicher nicht wutkrank gewesen sein, weil er später wieder von den Angehörigen gesehen (?) wurde.

Am Ende der Impfungen erkrankte der Knabe unter Fieber, Erbrechen, Retentio. Erlöschen der Patellarreflexe. Aber die Motilität der Beine war nicht gestört, er lief herum, bis er plötzlich Krämpfe bekam und unter „cri cerebrale" zusammenstürzte. Temperatur bis 41,7, abends Koma, Exitus.

Im Rückenmark Veränderungen wie bei Lyssa. Bei Uebertragungsversuchen mit dem Gehirn erkrankten die Kaninchen am 4. Tag und am 6.—7. Tag.

3) Fall: Im Jahre 1916 wurde ein Soldat nach verstärkter Högyes-Methode geimpft, der von einem sicher wutkranken Hunde gebissen worden war, und im Gefolge der Impfung erkrankte. Die Symptome äußerten sich in motorischer Unruhe. Der Patient stöhnt und schreit, es tritt Erbrechen auf, Pupillen sind eng und reagieren nicht, Temperatur 41,7. Exitus am 5. Tag. Malariaplasmodien im Blute. Im Hirn (Rinde) keine Negri-Körperchen nachweisbar. Uebertragungsversuche auf Kaninchen und Affen positiv. Die Tiere sterben in 5—8 Tagen an Erscheinungen der Virus fixe-Infektion. Es wird dann noch ein vierter Fall angeführt, der ein nach der Methode Högyes geimpftes eingeborenes Mädchen betrifft, das ebenfalls Malariaparasiten im Blute hatte. Die Uebertragungsversuche mit dem Gehirn der Verstorbenen waren positiv, bei den erkrankten Kaninchen fanden sich negriähnliche Körperchen im Gehirn, was van den Hoven aber auch sonst bei Virus fixe-Infektion beobachten konnte, wenn der Tod der Tiere verzögert eintrat.

Van den Hoven kommt zu verschiedenen Konklusionen. Aus der Inkubationszeit der postvakzinalen Lähmungen, die bei Pasteur-Impfungen durchschnittlich nach 9—19 Tagen, bei Högyes nach 11—25 Tagen auftreten, schließt sie zunächst, daß die Ursache der Erkrankungen in der Impfung selbst gelegen sein müsse. Die letzte Ursache dabei aber sei das Virus fixe selbst, das dann zu Erkrankungen, zu postvakzinalen Lähmungen führe, wenn, wie bei zu intensiver Impfung, eine gewisse Quantität des eingeimpften Virus fixe über-

schritten werde. Auf Grund ihrer Statistik führt sie diesen Nachweis und schlägt vor, nur eine Menge von 30 mg Impfstoff nach der Högyes-Methode innerhalb 2 Wochen zu verwenden, weil diese Quantität auch von neuropathischen Individuen vertragen werde. Aus der Statistik der Lähmungen, wonach unter 21 Fällen sich 19 Männer finden, schließt van den Hoven, daß Frauen und Kinder eine viel geringere Empfindlichkeit gegen die Schäden des Virus fixe aufweisen als Männer.

Die Publikation dieser vorausgestellten, für die Lyssafrage so außerordentlich wichtigen Beobachtungen hat mich nunmehr veranlaßt, nachstehende im Wiener Institute zur Beobachtung gekommene Fälle ebenfalls zu fachmännischer Diskussion zu stellen, da sie vielleicht mit dazu beitragen können, das Dunkel dieser Frage aufzuhellen. Es handelt sich insgesamt um 4 Fälle, von denen einige ganz besonderes Interesse verdienen.

1) Anna G., eine 62jährige Frau, wurde am 9. 8. 1923 von einer auf Wut fraglichen Katze in den rechten Daumenballen gebissen und vom 13. 8.—17. 8. geimpft. Die Impfung wurde unterbrochen, da die Katze angeblich gesund war. Es soll sich aber herausgestellt haben, daß das beißende Tier eine andere, wutverdächtige Katze gewesen war, und deshalb wurde die Impfung am 20. 8. wieder aufgenommen und bis 29. 8. fortgesetzt. Geimpft wurde nach Pasteur. Später soll die Katze angeblich doch gesund befunden worden sein. Am 26. 9., also 18 Tage nach beendigter Impfung erkrankte Patientin angeblich mit Fieber, Kreuzschmerzen, Schmerzen in den Händen, kein Erbrechen. 2 Tage später stellen sich Atembeschwerden ein. Pat. hat Schwierigkeiten beim Sprechen. Bei der Spitalaufnahme wird neben bronchitischen Erscheinungen folgender Befund erhoben: Abdomen etwas vorgewölbt, Milz und Leber nicht tastbar. Pat. kann schlecht sprechen, läßt Harn und Stuhl unter sich. Motorische Kraft der oberen und unteren Extremitäten herabgesetzt, besonders rechts. P.S.R. fehlt beiderseits. Babinski negativ, keine Facialisparesen, Bauchdeckenreflex fehlt. Puls 126. Nachmittags große Hinfälligkeit, reichliches Rasseln über beiden Lungen, abends Exitus. Die Obduktion ergibt als Todesursache Emphysem, Myodegeneratio cordis, Bronchitis chronica difusa[1]).

Uebertragungsversuche mit dem Hirn auf 3 Kaninchen:

a) geimpft subdural mit Amonshorn 24. 9., erkrankt 28. 9., Exitus 2. 10.,
b) geimpft subdural mit Medulla 24. 9., erkrankt 9. 10., Exitus 11. 10.,
c) geimpft subkutan, bleibt dauernd gesund.

Im Hirn und Rückenmark der Passage-Kaninchen konnten weder Negrische- noch Passagekörperchen festgestellt werden. Dagegen findet sich allenthalben mäßig intensives perivaskuläres Infiltrat und Infiltration der Meningen, neben schweren degenerativen Veränderungen der Ganglienzellen im Verlaufe des ganzen Rückenmarkes.

2) Julie H., 54 Jahre alt, wurde am 16. 1. 1924 von einem an sich bissigen Kater, der sich in der Folge als nicht wutkrank erwies, in den rechten Unterarm gebissen. Da die Katze nach dem Bisse entlaufen war, und erst 14 Tage später wiederkehrte, wurde am 21. 1. mit der Impfung nach Högyes begonnen und diese am 2. 2. beendet. An der Bißwunde entwickelte sich eine Phlegmone, die erst am 20. 2. ausheilte.

Am 25. 2. erkrankte H. plötzlich unter Schüttelfrost mit heftigen Krämpfen im Oberbauch und Schmerzen im Kreuz, die auch bis zum Tage der Spitalaufnahme am 28. 2. andauerten. Schon am folgenden Tage bemerkte Patientin, daß die Füße so schwach wurden, daß sie das Bett nicht verlassen konnte. Kein Erbrechen, Stuhlverhaltung, Urin dunkel. Bei der Spitalsaufnahme wurde kurz folgender Befund erhoben. Gut genährt, Pupillen reagieren prompt, kein Nystagmus, Hirnnerven frei, Sensorium klar. Rechter Arm motorisch schwächer als linker. Paraparese der Beine. Bauchdecken- und Patellarsehnenreflexe nicht auslösbar. Sensibilität der unteren Extremitäten für Tastsinn herabgesetzt, für Temperatur und Schmerzsinn normal. Zeigefinger-Nasenversuch leicht positiv. Leichte Ataxie, Sprache etwas undeutlich früher angeblich normal. Leichteste Bronchitis. Puls 114, Temperatur 37. Abdomen

1) Leider fehlt bei diesem auf Myelitis höchst verdächtigen Fall jedweder Sektionsbefund über das Zentralnervensystem und das eventuelle Vorhandensein von Negri-Körperchen.

schlaff, im rechten mittleren Oberbauch Druckempfindlichkeit, Milz und Leber nicht palpabel. Stuhl und Harnentleerung normal. Am nächsten Tage ist Patientin sehr apathisch, Sensorium im allgemeinen noch klar, Sprache ganz undeutlich und langsam, Schluckbeschwerden. Nystagmus horizontalis und verticalis. Parese der Augenmuskeln. Linker Mundwinkel herabhängend. keine Nackensteifigkeit, kein Kernig. Die Beinmuskeln ein wenig rigid. Hochgradige Parese der oberen Extremitäten, links stärker als rechts. Die Herabsetzung der Sensibilität erstreckt sich jetzt auch auf die oberen Extremitäten. Reflexe der oberen Extremitäten herabgesetzt aber noch deutlich vorhanden, beinahe vollkommene Lähmung der unteren Extremitäten, nur die Zehen sind gering beweglich, Sensibilität der unteren Extremitäten aufgehoben, Reflexe erloschen. Geringe Blasen- und Mastdarmstörungen. Temperatur 37,2. Puls 124. Respiration 36, oberflächlich und unregelmäßig. Am nächsten Tag trat unter Somnolenz rasch zunehmender Verfall ein. Schüttelfrost. Temperatur 38,7, Puls 140 Gaumensegel hebt sich nicht, kein Würgreflex. Exitus.

Obduktion: Akute Myelitis im Bereiche des ganzen Rückenmarkes und der Medulla, im Mark stellenweise vollkommene Erweichung, überall aber im Querschnitt vorquellend. Besonders hochgradige Veränderungen im Lenden- und Brustmark. Anscheinend jüngere Entzündung und Bildung graurötlicher Herde im Halsmark und Medulla oblongata. Hyperämie der Meningen. Mäßiges Hirnödem, geringe Schwellung der Milz, Pulpa zerfließlich.

Uebertragungsversuche auf Kaninchen:

a) Amonshorn subdural 3. 3., stirbt an Meningitis 5. 3.
b) Brücke subdural 3. 3., erkrankt 11. 3. Lyssa, am 15. 3. †.
c) Medulla subdural 3. 3., stirbt an Sepsis 5. 3.
d) karbolisiertes Amonshorn subdural geimpft 6. 3., am 15. III. krank, 16. 3. Lyssa, 18. 3. †.
e) karbolisierte Medulla subdural geimpft 6. 3., am 13. 3. krank, 14. 3. Lyssa, 16. 3. †.

Weitere Passagen positiv.

Im Hirn und Rückenmark der Passage-Kaninchen konnten weder Negrische noch Passagekörperchen fetgsestellt werden. Dagegen findet sich allenthalben, besonders schön aber im Pons perivaskuläres Rundzelleninfiltrat, das breitmantelförmig die Gefäßlumina umgibt, wie es sonst bei Encephalitis lethargica charakteristisch ist. Die degenarativen Veränderungen an den Ganglienzellen etwas weniger ausgesprochen.

3) Ein 15jähriges Mädchen, Rudolfine W., meldete sich zur Schutzimpfung, da sie angeblich von einem unbekannten Hunde gebissen worden sei. Sie hatte an der Vorderseite des linken Oberschenkels eine oberflächliche Exkoriation mit Hämatom. Die Impfung nach Högyes wurde am 22. 6. 1925 begonnen und am 6. 7. beendet. Erst im Zuge eines gerichtlichen Verfahrens stellte sich nachträglich auf Grund einer Anzeige heraus, daß das Mädchen gar nicht von einem Hunde, sondern im Bade von einem jungen Manne im Scherze gebissen worden war. Das Mädchen hatte, da sie sich vor den Folgen dieses Bisses fürchtete und den wahren Grund nicht angeben wollte, die Erzählung von einem Hundebisse erfunden, um zur Impfung zugelassen zu werden.

3 Wochen nach durchgeführter Impfung erkrankte Pat. mit hohem Fieber, starken Kopf- und Halsschmerzen, ferner Schluckbeschwerden. Appetit war schlecht, Pat. mußte öfters erbrechen, es bestand allgemeines Unwohlsein und Magenschmerzen. Vor ¾ Jahren stand Pat. wegen eines Lungenspitzenkatarrhs in Behandlung, war sonst gesund. Pat. wurde am 3. Tage der Erkrankung in ein Spital aufgenommen, wo nachstehender Befund erhoben wurde:

Mittelgroß, mittelkräftig, guter Ernährungszustand. Conjunctivitis und starke Rötung der Rachengebilde. Beide Tonsillen entzündlich gerötet, geschwollen, über der linken Tonsille ein Eiterpfropf sichtbar. Ueber beiden unteren Lungenpartien leicht verschärfte Atmung. Herzbefund, Abdomen normal.

Es besteht Nackensteife und Opisthotonus. Krampfzustände und tetanische Krämpfe in der ganzen Muskulatur. Chvostek rechts positiv, Trousseau negativ.

Am nächsten Tag hat Pat. den ganzen Tag ununterbrochen Krämpfe an Armen und Beinen von ca. 1—2 Min. Dauer, dabei sind beide Handgelenke rechtwinklig volar flektiert. Die Sprunggelenke maximal plantar flektiert, Knie- und Ellenbogengelenke immer gestreckt. Pat. nimmt Wasser und Medizin, sie stöhnt und schreit fortwährend. Die Krämpfe dauern auch die ganze Nacht über an. Dabei verliert Pat. während der Krämpfe Urin. Am übernächsten Tag in der Frühe beginnen die Krämpfe zu sistieren, Pat. ist stark benommen. die Herzaktion frequent, Puls gut gespannt. Jede Bewegung oder Berührung der Patientin (Um-

schlagwechseln, Pulsfühlen) lösten tonischen Krampf aus, ebenso Geräusche.

Vormittags tritt Cheyne-Stokesches Atmen auf. Deutliche Paraplegie der Extremitäten, Sehnenreflexe fehlen.

Um 2 Uhr nachmittags wird die Atmung sehr langsam, die Zyanose nimmt zu. Auf Brust und Oberbauch treten rote Flecken auf. Puls gut gespannt. Gegen 8 Uhr abends zunehmende Lähmung des Atemzentrums, die roten Flecken verschwinden. Am nächsten Tag trat Exitus ein. Die Temperatur betrug bei der Einlieferung 38,5, stieg am nächsten Tag über 40 und hielt sich ständig über 39°. Die Diagnose lautete Tetanie? Poliomyelitis anterior akuta?

Die Sektion ergab eine hochgradige zentrale Erweichung des Rückenmarkes mit punktförmigen Blutaustritten im Bereiche der grauen Substanz. Oedeme und mäßigen Hydrocephalus internus im Großhirn, trübe Schwellung der parenchymatösen Organe, fettige Degenerationsherde in der Niere, vereinzelte bronchopneumonische Herde von Aspirationscharakter in beiden Unterlappen. Septische Erweichung der Milzpulpa. In der linken Tonsille eingedickter Eiterpfropf von Hanfkorngröße, katarrhalische Enteritis mit leichter Schwellung der Payerschen Plaques. Diagnose: Poliomyelitis acuta anterior.

Die histologische Untersuchung des Gehirns und Rückenmarks ergab folgenden Befund: Diffuse infiltrierende Entzündung der ganzen Substanz im Verlauf des ganzen Rückenmarks und der Medulla oblongata, die besonders intensiv am Boden des IV. Ventrikels entwickelt ist. Die meist perivaskulär angeordneten Infiltrate bestehen fast durchwegs aus lymphozytären Elementen neben spärlich polynukleären Leukozyten. Auch die weichen Hirnhäute entzündlich infiltriert. Am Boden des IV. Ventrikels reichlich kapilläre Hämorrhagien. Herdweise finden sich die gleichen Veränderungen auch im Gehirn. Die Ganglienzellen weisen im Bereiche der Entzündung starke degenerative Veränderungen auf, Schwellung, Kernzerfall, fettige Entartung. Es besteht demnach das Bild einer akuten difusen Polioencephalitis und Poliomyelitis, ohne daß aus dem histologischen Befunde ein Anhaltspunkt für die Aetiologie des Prozesses sich gewinnen ließe.

Uebertragungsversuche: Zwei Kaninchen Nr. 36 und Nr. 39 wurden am 3. 8. mit dem frischen Hirn subdural geimpft. Kaninchen Nr. 36 erkrankt am Abend des 7. (10. 8.) Tages an deutlichen Erscheinungen stiller Wut resp. einer Virus-fixe-Lyssa. Exitus am 13. 8. Nr. 39 erkrankt schon am 4. Tage (7. 8. nach der Impfung mit Parese der Hinterbeine, am 7. Tage (10. 8.) Zittern des Kopfes, Gleichgewichtsstörungen, leichte Lähmung auch der Vorderhand. 11. 8. deutliche Lyssa. Exitus am 13. 8. Bei einer zweiten Passage von diesen beiden Tieren erkranken die betreffenden Versuchstiere je am 7. Tag an typischer Virus fixe-Lyssa resp. stiller Wut.

4) Josef B. wurde am rechten Handrücken und am Mittelglied des rechten kleinen Fingers am 9. 8. 1925 von einem unbekannten Hunde gebissen. Die Impfung nach Högyes wurde am 10. 8. begonnen und am 18. 8. durch Fernbleiben des Patienten unterbrochen. Es muß bemerkt werden, daß Pat., der bei einer Pionier-Abteilung in der Nähe Wiens diente, wiederholt schweißbedeckt und abgehetzt zur Impfung kam, da er angeblich mittels Rad von seinem Garnisonorte zur Impfung fahre. Am 7. 9., also 20 Tage nach der letzten Impfung fiel Josef B. beim Pontonbau herunter, konnte sich aber erhalten und wies keinerlei äußere Verletezung auf. Er ging selbst nachhause und erkrankte abends mit Fieber und Kreuzschmerzen. Am nächsten Tage, am 8. 9. wurde er ins Spital gebracht. Es bestand Müdigkeit der Beine, keinerlei objektive, auch keine neurologischen Befunde. Temperatur 38,3.

9. 9.: Temperatur 37,3. Kontinuierliches Erbrechen, Benommenheit, Paraparese der beiden unteren Extremitäten, beiderseits Klonus, Babinski links, Sehnenreflexe erhalten, Hyperalgesie von 2 Querfinger unterhalb des Nabels abwärts.

10. 9. vollkommen benommen, Paralyse der Beine mit erloschenen Reflexen, Temperatur 39,3, agonal. 11. 9. 3 Uhr früh Exitus. Im Spital wurden weder Krämpfe noch Cheyne-Stokesche Atmung oder Schlingkrämpfe beobachtet.

Die Sektion ergab: Bronchopneumonie[1]). Diffuse eitrige Bronchitis, parenchymatöse Degeneration der Leber. Hyperämie und akutes Oedem des Gehirnes. Sonst am Gehirn und Rückenmark kein makroskopischer Befund. Histologisch finden sich im Verlaufe des ganzen Rückenmarkes, am intensivsten im Lendenmark, gegen das Halsmark kontinuierlich an Intensität abnehmend, ausgedehnte, fast durchweg perivaskulär angeordnete Rundzelleninfiltrate, sowie vereinzelte kapillare Hämor-

---

1) Es ist auffallend, daß in allen Fällen die bronchopneumonischen Erscheinungen auftreten. Möglicherweise deutet dies auf frühzeitige Schädigung des Atemzentrums hin.

rhagien und schwere degenerative Veränderungen an den Ganglienzellen (Tigrolyse, Kernzerfall, Neuronophagie etc.). In der grauen Substanz des Rückenmarks sind stellenweise die entzündlichen Infiltrate auch mehr diffus entwickelt. Die Gefäße sind überall maximal erweitert und prall mit Blut gefüllt. Die gleichen Veränderungen, nur geringer an Intensität, finden sich auch in den Stammganglien des Großhirns. Auch die Gehirnsubstanz ist stark hyperämisch. Hie und da kommen auch hier kapilläre Blutaustritte zur Ansicht. Die Untersuchung auf Negrische Körperchen, insbesondere auch in den Amonshörnern, hatte ein durchaus negatives Ergebnis. Diagnose: akute Polioencephalitis ohne Anhalspunktt für die Aetiologie des Prozesses. Die Intensitätsabstufungen der entzündlichen Veränderungen im Rückenmark sprechen eher für eine nach Art der Landryschen Paralyse ablaufenden Erkrankung als für Lyssa.

Uebertragungsversuch: Ein Kaninchen mit frischer Brücke intradural am 11. 9. 25 geimpft, erkrankt am 17. 9. deutlich an stiller Wut resp. an Virus fixe-Lyssa. Exitus am 20. 9. 25.

Ein Kaninchen intradural infiziert am 11. 9. 25 mit frischem Amonshorn, erkrankt am 17. 9. an stiller Wut resp. an typischer Virus fixe-Lyssa. Exitus am 20. 9.

Ein Kaninchen am 17. 9. intradural geimpft mit Glyzerin-Rückenmark erkrankt am 23. 9. früh typisch, wurde nachmittags getötet für andere Untersuchungen.

Wenn wir die im vorstehenden wiedergegebenen Krankengeschichten und Obduktionsbefunde kurz auf die für unsere Frage in Betracht kommenden Tatsachen zusammenfassen, so ergibt sich folgendes: 1) In dem von Quast angegebenen Falle erkrankt ein von einem nicht auf Wut untersuchten Hunde geleckter Mann am 14. Tage der Schutzimpfung unter Erscheinungen, die keineswegs einer postvakzinalen Lähmung entsprechen, und stirbt. Die Sektion ergibt tuberkulöse Meningitis. Im Gehirn wird durch Tierversuch Virus fixe nachgewiesen.

Die 4 Fälle van den Hovens charakterisieren sich folgendermaßen: 2) Ein nach Pasteur geimpfter, wahrscheinlich von einem tollen Hunde gebissener Mann erkrankt 9 Tage nach der Impfung unter ähnlichen Erscheinungen, wie wir sie bei postvakzinalen Lähmungen sehen, stirbt aber, wie die Sektion ergibt, wahrscheinlich an den Folgen einer Sepsis. Hirn und Rückenmark normal. Lyssavirus ist im Nervensystem nicht nachzuweisen. — 3) Ein Knabe, von einem angeblich gesunden Affen gebissen, erkrankt am Ende einer Högyes-Impfung unter Symptomen, die nicht denen einer postvakzinalen Lähmung entsprechen und stirbt. Im Rückenmark Veränderungen wie bei Lyssa. Im Gehirn Virus fixe durch Übertragung nachgewiesen. — 4) Ein Soldat, von sicher wutkrankem Hund gebissen, erkrankt im Gefolge der Högyes-Schutzimpfung und stirbt unter Erscheinungen, die nicht dem gewohnten Bilde der Lähmungen entsprechen. Nebenbei bestand Malaria. Im Gehirn durch Übertragung Virus fixe nachgewiesen. — 5) Ein eingeborenes, ebenfalls an Malaria erkranktes Kind, nach unicherer Wutinfektion nach Högyes geimpft, erkrankt, stirbt unter unklaren Symptomen, und im Gehirn läßt sich Virus fixe nachweisen. Daran reihen sich unsere 4 Fälle: 6) Eine 62jährige Frau, von unsicherer Katze gebissen, nach Pasteur schutzgeimpft, erkrankt anscheinend interkurrent 18 Tage nach der Impfung und stirbt. Virus fixe im Zentralnervensystem durch Uebertragung festgestellt. 7) 54jährige Frau, von sicherlich nicht wutkranker Katze gebissen, nach Högyes geimpft, erkrankt 23 Tage nach der Schutzimpfung unter Erscheinungen postvakzinaler Lähmung und stirbt. Erweichungen im Rückenmarke, Vorhandensein von Virus fixe durch positive Uebertragung sicher-

gestellt. — 8) Junges Mädchen, bei welcher Wutverdacht absolut ausgeschlossen ist, erkrankte 21 Tage nach der Högyes-Impfung unter den Erscheinungen von Tetanie, keineswegs aber an jenen einer postvakzinalen Lähmung. Im Zentralnervensystem hochgradige Erweichung, Anwesenheit von Virus fixe im Zentralnervensystem durch positiven Tierversuch erwiesen. — 9) Soldat, von unbekanntem Hunde gebissen, erkrankt am 20. Tage nach abgebrochener Högyes-Impfung unter Erscheinungen postvakzinaler Lähmung und stirbt. Typische Veränderungen im Zentralnervensystem und Nachweis der Anwesenheit von Virus fixe durch positiven Tierversuch erbracht.

Aus diesen angeführten Fällen ergibt sich zunächst die außerordentlich wichtige Tatsache, daß, ausgenommen in dem Falle 2 von van den Hoven, also in 8 Fällen nach Lyssaimpfung sich das Vorhandensein von Lyssavirus, und zwar in Form des Virus fixe, wie es zur Impfung verwendet wurde, durch positiven Tierversuch hat nachweisen lassen.

Quast schließt daraus, daß sich Virus fixe längere Zeit im Zentralnervensystem aufhalten könne, van den Hoven folgert aus den von ihr wiedergegebenen Fällen, daß das im Zentralnervensystem gefundene Virus fixe die direkte Ursache der Erkrankung und deren Folgen war.

Bevor ich in die Diskussion eingehe, möchte ich aus unseren Fällen die wichtige Tatsache hervorheben, daß es in einem nach Pasteur geimpften Falle, der nicht unter auf Lyssa, wohl aber auf Myelitis verdächtigen Erscheinungen zum Exitus gekommen ist, einwandfrei gelungen ist, die Anwesenheit des Virus fixe nach Pasteur-Impfung im Zentralnervensystem, und zwar 18 Tage nach durchgeführter Impfung, durch gelungenen Tierversuch nachzuweisen.

Weiter führen wir 2 Fälle 7 und 8 an, die sicher nicht von wutkranken Tieren gebissen wurden, und unter auf Impfschäden hochverdächtigen Erscheinungen erkrankten und bei denen ebenfalls Virus fixe nach Högyes-Impfung im Zentralnervensystem der Verstorbenen nachgewiesen wurde, wie dies auch van den Hoven für zwei ihrer Fälle angibt. Bei allen anderen Fällen mit positiver Übertragung war das beißende Tier verdächtig oder unsicher.

Es ist uns also gelungen, Virus fixe auch nach vorausgegangener Pasteurscher Impfung nachzuweisen, und ist dies vielleicht der erste sichere Fall in dieser Richtung.

Für die ganze Besprechung der Frage der Impfschäden erscheint es mir von allergrößter Wichtigkeit, die Symptome der Erkrankungen an den angeführten Fällen selbst einmal genauer zu besprechen.

Wir wissen, daß die Krankheitserscheinungen bei natürlicher Lyssainfektion sowohl die Formen der echten rasenden Wut oder aber jene der stillen paralytischen Wut annehmen können, daß es sogar Fälle von abortiver oder latenter Lyssa gibt, bei denen die Krankheitssymptome über rein psychische Alterationen nicht hinausgehen. Es gibt ferner Fälle von Wut, bei denen sich das Virus unheimlich lange Zeit im Körper des Gebissenen völlig latent aufhalten kann, bis vielleicht irgendeine Gelegenheitsursache den Ausbruch der Erkrankung plötzlich auslöst. Einen in dieser Richtung ganz besonders interessanten Fall, der mich beschäftigte, und der zeigt, wie lange Zeit sich das

Virus latent erhalten kann, möchte ich hier einschaltend wiedergeben. In einer Stadt Siebenbürgens wurden im Jahre 1923 5 Personen von einem tollen Hund gebissen, darunter die Tochter und der Kutscher eines vielbeschäftigten Arztes. Bei allen Personen wurde 3 Tage nach den Bißverletzungen mit der Impfung begonnen und diese auch ohne Zwischenfall zu Ende geführt. Plötzlich in einer Nacht, und zwar im 17. Monate nach dem Biß, erkrankte jener Kutscher unter den typischen Anzeichen echter Tollwut, und starb unter den klassischen Symptomen akuter Tollwutsinfektion. Es dürfte dies wohl ein sehr seltener Fall langer Inkubation sein, um so interessanter als es sich dabei um eine schutzgeimpfte Person handelt.

Die Unterschiede in den Krankheitssymptomen der beiden häufigsten Formen der menschlichen Lyssa, der sogenannten rasenden und der stillen Wut, sind nur dort scharf gezeichnet, wo es sich um die beiden Extreme handelt. Das Charakteristische für die rasende Wut sind das ausgesprochene Erregungsstadium, die gesteigerte Reflexerregbarkeit, die Schling- und Muskelkrämpfe, die ausgesprochene Hydro- bzw. Photophobie, bis schließlich auch hier die Lähmungen einsetzen und die Krankheit beenden. Gegenüber dieser, auch als konvulsive Form bezeichneten Art der Erkrankung schwinden bei der sogenannten paralytischen Form die anfänglich ebenfalls vorhandenen Erregungszustände früher, es treten Lähmungserscheinungen und Gefühllosigkeit, sogar Erlöschen der Reflexe in den Vordergrund der Symptome. Eine ausgesprochene Hydrophobie fehlt meist, obgleich Atmungs- und Schlingstörungen mehr oder weniger ausgesprochen vorhanden sind.

Zwischen beiden Formen gibt es aber alle Übergänge. Wenn wir nun weiterhin versuchen, in den eingangs angeführten Fällen die Krankengeschichten zu analysieren, dann finden wir in einigen von den von van den Hoven wiedergegebenen Fällen Angaben, die auffallend an Krankheitsbilder der Wuterkrankung und nicht an postvakzinale Lähmungen erinnern.

Dafür sprechen die Krankengeschichten des von dem angeblich sicher nicht wutverdächtigen Affen gebissenen Knaben, der zuerst Krämpfe bekam und unter „cri cerebrale“ zusammenstürzte, nachdem er auffallend herumgelaufen war, jener Soldat, bei dessen Erkrankung motorische Unruhe, Aufregungszustände, wie Stöhnen und Schreien, im Vordergrunde stehen. Allerdings ist dieser Mann von einem sicher wutkranken Hund gebissen worden und das im Zentralnervensystem vorhandene Virus fixe, das rascher im Tierversuche entscheidet als Straßenwut, könnte das Vorhandensein dieses letzteren der Erkenntnis entzogen haben. Es wurden auch keine Negri-Körperchen gefunden. Von unseren Fällen ist in dieser Beziehung besonders der 3. Fall hervorzuheben, wo ein 15jähriges Mädchen, bei welchem jeder Wutverdacht mit Sicherheit auszuschließen ist, 3 Wochen nach durchgeführter Schutzimpfung an Erscheinungen erkrankte, die klinisch sich vorwiegend als hohes Fieber, Opisthotonus und schwerste Krämpfe der Extremitäten äußerten; Pat. stöhnt und schreit, die Krämpfe dauern an. Bewegungen oder Berührungen der Pat. lösen einen tonischen Krampf aus, ebenso Geräusche. Der Sektionsbefund, auf Polyomyelitis acuta anterior lautend, stimmt als solcher überein mit jenen Veränderungen, die wir auch bei postvakzinalen Impfungen. manchmal aber auch bei Lyssa sehen, und die klinisch beobachteten Krankheitserscheinungen sind für Polyomyelitis doch etwas

ungewöhnliche, sie könnten zumindest ebensogut als Symptome einer Wuterkrankung angesehen werden. Die Uebertragung war positiv; die Veränderungen im Zentralnervensystem stark ausgesprochene.

Die übrigen, von uns angeführten Erkrankungen, bei denen eine positive Uebertragung gelang, tragen allerdings ausgesprochensten Charakter postvakzinaler Lähmung.

Wenn wir uns überdies die zahlreichen Krankengeschichten ansehen, die über Impfschädenerkrankungen veröffentlicht wurden, besonders jene von Schweinburg aus unserem Institute, dann sehen wir, wie mir scheint, in diesen öfters wesentliche Verschiedenheiten der Krankheitssymptome, insbesondere in bezug auf Uebererregbarkeit oder Herabsetzung der Reflexe, des Fehlens oder Auftretens von Krämpfen usw. vorliegen.

Es gibt demnach unter den Erkrankungen, die wir als Impfschäden auffassen, auch solche, die in bezug auf die Symptomatologie gewissen Lyssabildern sehr ähnlich sind.

Aus den angeführten Fällen bleibt also die Tatsache bestehen, daß es gelingt, bei nach Lyssaschutzimpfung verstorbenen Personen das zur Impfung verwendete Virus fixe noch Wochen nach durchgeführter Impfung im Zentralnervensystem nachzuweisen, und zwar sowohl wenn nach dem Högyesschen Verfahren als auch seltener, wenn nach der Methode Pasteurs geimpft worden war. In unseren Fällen fanden sich dabei stets weitgehende charakteristische pathologische Veränderungen im Zentralnervensystem der Verstorbenen, auch dort, wo eine Wutinfektion sicher ausgeschlossen werden konnte. Das am Lebenden zum Ausdruck gekommene Krankheitsbild entspricht dabei keineswegs immer einem solchen der schlaffen Lähmungen; wir sehen auch Bilder mit ausgesprochenen Erregungsstadien der Kranken,. mit Hyperästhesien und andauernden Krämpfen. Lähmungen fehlen bei diesen Fällen ganz oder treten erst spät auf, ähnlich wie bei Wutinfektion. Das Fieber ist stets sehr hoch und andauernd.

Bei den 4 in unserem Institute beobachteten Fällen ist die Tatsache besonders auffallend, daß der Ausbruch der Erkrankung bei dem nach Pasteur geimpften Fall 18 Tage, bei den 3 nach Högyes geimpften Fällen 20—23 Tage nach Beendigung der Impfung einsetzte, also ein für postvakzinale Impfungen gewiß später Termin.

Es ist ferner durch die Uebertragungsversuche sicher gestellt, daß das im Zentralnervensystem der Verstorbenen als lebend nachgewiesene Virus ein solches vom Typus Virus fixe war, wie es zur Impfung verwendet wurde.

Alle diese Tatsachen scheinen mir nun doch für die ganze Auffassung der Frage nach der Aetiologie der postvakzinalen Lähmungen resp. der postvakzinalen Impfschäden überhaupt von wesentlicher Bedeutung und einer neuerlichen Diskussion wert zu sein, um so mehr als es vielleicht das erste Mal gelungen ist, auch in einem Falle, der nach Pasteur geimpft worden war, die Anwesenheit des Virus fixe im Zentralnervensystem der Geimpften durch positive Uebertragung nachzuweisen. Denn gerade der Umstand, daß es bisher nicht oder nicht in absolut einwandfreier Weise gelang, diesen Nachweis zu erbringen, führte zur Ansicht, daß das Virus fixe

nicht in ursächlicher Beziehung zu den postvakzinalen Lähmungen stehen könne.

Ich möchte zunächst an Hand unserer Fälle die verschiedenen Theorien über das Zustandekommen der Lähmungen betrachten.

Im Vordergrunde steht die Auffassung Kochs und anderer, nach welcher die Lähmungen ein modifiziertes Krankheitsbild der Wutinfektion darstellen, hervorgerufen durch abgeschwächtes Straßenwutvirus. Sie ziehen vor allem als Beweis die so häufig beobachteten Lähmungen der Versuchstiere bei Virus fixe-Infektionen zum Vergleiche heran, die selbst bei gleichartiger Infektion mit demselben Virus neben typischen Wuterkrankungen bei einzelnen Tieren in Erscheinung treten. Auch Koch verweist darauf, daß bei einzelnen Myelitisfällen neben dem typischen Bilde sich doch einzelne Lyssa-Symptome, wie Tobsucht, Krämpfe und Speichelfluß, vorfinden, nicht zuletzt erscheint Koch auch die Uebereinstimmung des histo-pathologischen Befundes, wie er beim lyssagelähmten Versuchstiere und bei den an Myelitis verstorbenen Menschen im Zentralnervensystem erhoben wird, von wesentlicher Bedeutung für seine Auffassung zu sein. Koch konnte ferner in einem Falle, wo der Pat. an Myelitis schwer erkrankt, aber nach Abheilung der Lähmungen später doch interkurrent an Sepsis gestorben war, im Zentralnervensystem ein Lyssavirus nachweisen, das bei Uebertragungen die Versuchstiere unter dem Bilde „konsumptiver Wut“ tötete. Koch verweist ferner darauf, daß sich oft schon wenige Tage nach der Infektion histologische Veränderungen im Lendenmarke finden, ohne daß dasselbe schon infektiös wäre. Es wäre nun nach Koch möglich, daß die Vermehrung eines abgeschwächten Erregers an dieser Stelle Paraplegien auslösen, ohne daß es in weiterer Folge zur Ausbildung von Lyssa kommen könne, weil infolge von mittlerweile eingetretener Ausbildung von Immunstoffen die höher gelegenen nervösen Zentren gegen das Lyssagift geschützt seien. Koch und Jochmann nehmen auf Grund eines von Franca beschriebenen positiven Uebertragungsversuches eines Pasteur geimpften Falles, der von sicher gesundem Hunde gebissen war, an, daß auch Virus fixe gelegentlich die Ursache der Paraplegien sein könne. Koch und Jochmann sind also die Hauptvertreter für die Annahme einer infektiösen Ursache der Paraplegien, bedingt durch Lyssavirus.

Diese Auffassung hat zahlreichen Widerspruch von seiten verschiedenster Autoren ausgelöst. Vor allem hat man Koch vorgehalten, daß es bei natürlicher Infektion niemals zur Ausheilung einer einmal ausgebrochenen Erkrankung komme, wie dies bei Paraplegien doch häufig der Fall sei, und daß dieses Krankheitsbild nur nach künstlicher Infektion beobachtet werde. Bezüglich der Krankheitssymptome fehlten bei postvakzinalen Lähmungen doch stets die prägnanten Lyssasymptome, wie Hydrophobie, Reflexübererregbarkeit, Auslösbarkeit der Krämpfe durch Lichtwirkung und Geräusche. Was aber die Uebertragungsversuche betrifft, so weist besonders Schweinburg auf die Fälle von Paltauf hin, wo die Uebertragung von Straßenwutvirus aus dem Gehirn interkurrent Verstorbener auch dort gelungen sei, wo niemals Symptome von Lyssa oder Lähmungen in Erscheinung getreten waren. Der positive Uebertragungsversuch beweise demnach nur die Anwesenheit von Lyssavirus im Zentralnervensystem, aber nicht eine ätiologische Ursache desselben für die Lähmungen. In dem Uebertragungsversuche Kochs sei es überdies nur zu dem Bilde der konsumptiven Lyssa ge-

kommen, deren Aetiologie um so weniger geklärt wäre, als ähnliche Krankheitsbilder auch durch keimfreie Filtrate (Babes), durch Virus fixe-Emulsionen, die durch Erhitzen abgetötet waren, und schließlich durch wiederholte Injektionen von normaler Nervensubstanz (Marie) erzeugt werden konnten. Daher sei die Beweiskraft des von Koch angeführten positiven Uebertragungsversuches sehr geschmälert. Auch konnte Koch bei seinen Uebertragungsversuchen trotz zahlreicher Passagen keine kürzere Inkubationszeit für die Haftung seines Virus erzielen, was sonst bei jedem Straßenvirus im Kaninchenversuch gelingt. Vorwiegend aber hält man Koch entgegen, daß es nur in den allerseltensten Fällen gelingt, bei Myelitis positive Uebertragungen zu erzielen, daß die negativen vielmehr bei weitem überwiegen. Dieser Uebertragungsversuch müßte aber bei schweren akuten Lähmungen ohne weiteres gelingen, wenn das Lyssavirus die Ursache derselben wäre. Schweinburg sieht auch darin einen Widerspruch zur Auffassung Kochs, daß die durchschnittliche Inkubation der Myelitiden vom Tage des Bisses gerechnet kürzer als jene der Lyssainfektion sei. Denn wenn die Myelitis eine abgeschwächte Lyssa wäre, müßte die Inkubation eine beträchtlich verlängerte sein, denn nur als abgeschwächte Infektion seien jene Fälle von Wuterkrankung mit 100tägiger Inkubation und darüber zu erklären. Die Inkubation der Lähmungen hängt aber offensichtlich nicht vom Tage des Bisses, sondern von jenem des Impfbeginnes ab. Auch könne man nicht gut eine Erkrankung, die unter Umständen innerhalb weniger Tage, wie die Myelitis, zum Tode führe, als Ausdruck einer abgeschwächten Infektion ansehen. Ferner hat schon Babes gegenüber Koch die Tatsache angeführt, daß bei gebissenen, aber nicht schutzgeimpften Personen Myelitis niemals beobachtet werde, dagegen aber sogar bei solchen Schutzgeimpften, die überhaupt nicht oder nur von gesunden Tieren gebissen worden waren.

Die Lähmungen können also nicht mit dem Bisse, sondern nur mit der Schutzimpfung in Zusammenhang stehen, seien also als Impfschäden aufzufassen.

Als Impfschaden kommt aber zunächst das Virus fixe in Betracht, und eine ganze Reihe von Autoren, wie Franka, Fermi, Papamarku etc. und in letzter Zeit van den Hoven, neigen der Ansicht zu, daß das Virus fixe in ursächlicher Beziehung zu den Lähmungen stehe[1]). Schweinburg tritt dieser Auffassung entgegen. Er verweist vor allen Dingen und gestützt auf die Ansichten Pasteurs, Pfeiffers, Kochs und Babes darauf, daß das Virus fixe für den Menschen subkutan injiziert überhaupt apathogen sei, und führt zur Unterstützung seiner Behauptung das große statistische Material von Ferran und insbesondere die Impfresultate nach der Methode von Högyes an, wo stets mit frischem Virus fixe geimpft wird. Auch sei die ganze Theorie der Lyssaimmunität darauf aufgebaut, daß das Virus fixe für den Menschen apathogen bereits im lokalen Gewebe unter Freiwerden von Endotoxinen zerstört werde. Schweinburg bespricht ausführlich 5 von Barregi angeführte Fälle, die tödlich verliefen und bei denen Virus fixe im Zentralnervensystem durch positive Uebertragung nachgewiesen wurden; er lehnt aber die Beweiskraft dieser Fälle ab und sagt, „daß sie nicht imstande sind, die durch zahlreiche Versuche

1) Während der Korrektur dieser Abhandlung ist eine höchst interessante Arbeit von Boecker in der Zeitschr. f. Hygiene erschienen, die leider in dieser Diskussion nicht mehr berücksichtigt werden konnte.

am Menschen erhärtete Ansicht von der Unschädlichkeit des Virus fixe bei subkutaner Injektion im allgemeinen zu erschüttern".

Aber diejenigen Autoren, welche im Virus fixe selbst die ursächliche Schädigung erblicken, verweisen darauf, daß die Myelitis um so häufiger auftrete, je intensiver geimpft werde, und auch van den Hoven sucht den Nachweis der Abhängigkeit der Myelitis von der Menge des überimpften Virus fixe zu erbringen. Auch spreche die Inkubation der Lähmungen für Passagewut. Schweinburg diskutiert in seiner Arbeit alle diese Argumente eingehend und kommt zu der Schlußfolgerung, daß die Tatsache des Zunehmens der Myelitiden mit der Intensität der Impfung, die Abhängigkeit des Ausbruches der Lähmungen vom Zeitpunkte des Impfbeginnes zwar richtig, aber auf eine andere ursächliche Wirkung als auf das Virus fixe zurückzuführen sei. Gelungene Uebertragungsversuche nach Myelitiden seien eben lediglich für eine Anwesenheit des Virus fixe im Zentralnervensystem, aber nicht auch für eine ätiologische Bedeutung desselben für die Erkrankung selbst beweisend. Insbesondere spricht die oft beobachtete kurze Inkubation (5 Tage) der Lähmungen sowohl gegen eine Infektion mit dem stark abgeschwächten Virus fixe, das zur Immunisierung verwendet war, als auch gegen eine solche mit abgeschwächtem Straßenvirus. Wesentlich und von besonderer Bedeutung sei die Tatsache, daß Lähmungen besonders häufig dort beobachtet werden, wo die Immunisierung mit erhitztem Virus fixe durchgeführt werde, wo also überhaupt kein lebendes Virus überimpft werde. Schweinburg hatte damals noch keine Kenntnis von den erst später bei unseren Impfungen in Erscheinung getretenen und vorstehend angeführten Fällen; wir hatten auch seit Einführung der Impfmethode nach Högyes durch fast 2 Jahre hindurch keinen einzigen Impfschaden, also Myelitiden zu verzeichnen, und die Impferfolge waren glänzende[1]).

Die vorangestellten Fälle, die mittlerweile zur Beobachtung kamen, scheinen mir aber doch geeignet, unsere Auffassung über das Wesen der ursächlichen Beziehung der Lyssaschutzimpfung zu den Myelitiden eindeutiger aufzuklären, als dies bisher ohne ihre Kenntnis geschehen konnte, und vielleicht doch auf einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Virus fixe und einer durch dieses verursachten Erkrankung hinzuweisen. Das bedeutendste Hindernis für diese Auffassung war bisher wohl und vor allen Dingen der Umstand, daß es verhältnismäßig selten gelang, das Virus durch positive Uebertragung im Zentralnervensystem der Myelitiserkrankten nachzuweisen, und daß man nur gar zu leicht geneigt war, aus dem eigentümlich gleichartigen Verhalten des Virus fixe im Tierversuche, insbesondere im Kaninchenorganismus, weitergehende Schlüsse zu ziehen.

Eine der allerwichtigsten Fragen zur Aufklärung erschien mir, wie erwähnt, zunächst einmal diejenige, ob wir berechtigt sind, das klinische Bild der paralytischen Lähmungen, wie sie uns bei postvakzinaler Myelitis entgegentreten, mit der Lyssaerkrankung in Beziehung zu bringen, oder ob beide Erkrankungen von Grund auf so verschieden sind, daß man keine gemeinsame Aetiologie annehmen darf. Ich möchte nun in dieser Richtung einen Schritt weitergehen und sehen, was uns in dieser Beziehung die Beobachtung der Tiere lehrt. Ich lege

1) Diese Angabe bedarf einer Richtigstellung insofern, als der zweite von mir angeführte Fall (Julie H.) sich zu Beginn der Einführung der Högyes-Impfung an unserem Institute ereignete.

dieser Betrachtung bei Besprechung von Tierversuchen die Begriffe „stille“ oder „rasende“ Wut in dem Sinne zugrunde, daß im ersteren Falle ausgesprochene Paraplegien analog der Impflyssa von Anbeginn vorherrschen, die in letzterem Falle erst später eintreten.

Wie verschieden sich nun die Infektion mit Lyssavirus bei Uebertragungen in bezug auf die Krankheitssymptome äußern kann, darüber gibt mir unser altes Protokollbuch, das noch unter Paltauf geführt wurde, interessante Aufschlüsse. Ich will einige Beispiele anführen:

1907. Ein von einem unbekannten Hunde gebissener und nur ein einziges Mal geimpfter Mann stirbt interkurrent an Delirium tremens. Bei Verimpfung des Gehirnes erkrankten die Tiere in 5 hintereinander folgenden Passagen jeweils am 42. bis 53. Tage unter Zittern des Kopfes, mangelnder Freßlust, Lähmungen der Hinterhand Streckkrämpfen und Dyspnoe. In der VI. Passage erkrankt das mit Hirn subdural geimpfte Kaninchen am 79. Tage unter Ausfall der Haare und Lähmung der Hinterhand, und dasselbe Krankheitsbild ließ sich sogar auf subkutanem Wege übertragen. Ein Kaninchen dieser leider im weiteren Verlaufe nicht mehr mit genauen Datierungen versehenen Passage-Reihe erkrankte aber doch an typischer Lyssa, was ausdrücklich angeführt wird und wichtig ist, weil es die Erkrankung verifiziert.

Es liegt also eine eigentümliche Erkrankung der Versuchstiere vor, die erst durch eine typische eingestreute Wuterkrankung eines Tieres und die mehrfach gelungene Uebertragung als Abart der Wut erkannt wird. Im vorliegenden Falle war sicher Wutvirus im Zentralnervensystem vorhanden, ohne daß der Pat. Myelitis oder Wuterscheinungen gezeigt hätte. Wäre die Impfung zu Ende geführt worden, so würden wir annehmen, daß es sich im Sinne Paltaufs um eine Abschwächung des Straßenvirus durch die Impfung handeln würde, was aber im vorliegenden Falle nicht möglich ist. Wenn wir aber annehmen dürften, daß sich das Virus zu dieser Zeit möglicherweise erst in einem Entwicklungsstadium befunden hat, wo es noch nicht für die Uebertragung voll virulent war, ferner daß das Delirium tremens vielleicht hervorgerufen wurde durch die ersten störenden Einflüsse des sich entwickelnden Virus — der Biß erfolgte 3 Wochen vor dem Tode des Patienten —, wenn wir ferner die sich uns darbietenden Krankheitserscheinungen der Versuchstiere einer Abart der Lyssaerkrankung zurechnen dürfen, dann könnte dies vielleicht unsere ganze Auffassung über die konsumptive Wut, über die Formen der Wuterkrankung überhaupt ändern, weil hier eine Abschwächung des Straßenvirus infolge durchgeführter Schutzimpfung überhaupt nicht in Frage kommt, und wir könnten annehmen, daß das Straßenvirus zu einer bestimmten Zeitperiode seiner Ausbreitung und Entwicklung im Organismus andere Krankheitsbilder bei der Uebertragung hervorrufen kann, als dann, wenn es seine Entwicklung bereits beendet und typische Wut hervorgerufen hat, wahrscheinlich und besonders dadurch, weil derartig nicht völlig ausgereiftes Virus bei Uebertragung in einen gesunden Organismus dortselbst eine starke Abschwächung seiner Virulenz erfährt.

Ein anderer Fall: Franz P., gebissen 2. 7. 1907, erkrankt 3. 9., gestorben 5. 9. Histologisch negativ. Das subdural geimpfte Kaninchen erkrankt an typischer Lyssa nach 76 Tagen, das subkutane erkrankt nach 53 Tagen an Lähmungen der Hinterhand, frißt nicht und magert ab, dann Lähmungen der Vorderhand und stirbt erst nach 20 Tagen ohne ein ausgeprägtes Lyssasymptom. Ein von diesem Tiere verimpftes Lendenmark erzeugt bei subkutaner Impfung typische Lyssa bei dem neuen Versuchstier nach einer Inkubation von 118 Tagen, wogegen das mit Lendenmark subdural geimpfte Kaninchen nach 39 Tagen nur an Lähmungen erkrankt, die nach 4 Tagen zum Tode führen.

Weiterhin wurden von einer nichtgeimpften, an Wut am 28. 8. 1918 verstorbenen Frau Marie P. Uebertragungsversuche vorgenommen. Das subdural geimpfte Kaninchen starb am 15. Tage an typischer Wut. Das subkutan geimpfte erkrankte nach 13 Tagen an stiller Wut, erholte sich nach 4tägiger Erkrankung, um 10 Tage später neuerlich zu erkranken. Diese zweite Attacke der stillen Wut dauerte 10 Tage an, obwohl es sich um direkte Uebertragung vom wutkranken Menschen handelte.

Wir sehen also beim Versuchstiere auch bei direkter Uebertragung von an Lyssa Verstorbenen, und zwar bei duraler wie bei subkutaner In-

jektion die verschiedensten Krankheitsbilder in allen Uebergängen von der rasenden Wut zu ausgesprochenen Lähmungen, bis zu jenen die Erkrankung verschleiernden Bildern auftreten, die eine Lyssaerkrankung gar nicht vermuten ließen, wenn nicht eingesprengte typische Erkrankungen und Passagemöglichkeit aufklären würde, daß Lyssainfektion vorliegt. Dies tritt bei Erstübertragung schon in Erscheinung.

Aber auch merkwürdigen Sprüngen von einer Erkrankungsform in die andere begegnet man, die ebenfalls wieder eher in einer Eigenart der Entwicklung oder der Lokalisation des Virus selbst oder seiner Lebensäußerungen zu suchen sein dürften, als in der Individualität der Versuchstiere. Unser Protokoll enthält zahlreiche, lang fortgesetzte Versuchsreihen über Kaninchen- und Meerschweinchenpassagen, worin man einerseits das Krankheitsbild der stillen, andererseits das der rasenden Wut oft ganz willkürlich in den Passagen abwechseln sieht. Daß dies aber auch serienweise geschehen kann, zeigt folgendes Beispiel:

Uebertragung aus einem Negri-positiven Hirn B.T., trotz Impfung an Wut am 28. 10. 1909 gestorben. 1.—14. Passage, rasende Wut, 15.—19. stille Wut, 20.—39. rasende Wut, 40. stille Wut, 41.—48. rasende Wut, 49.—52. fragliche Wut, Streckkrämpfe, zum Teil atypische Lähmungen.

Auch bezüglich der Ausbreitung des Lyssavirus im Organismus besteht gewiß keine Gleichmäßigkeit. Wir finden Virus im Lendenmark, im Lumbalpunktate, in der Ventrikelflüssigeit, in den Nebennieren, ja selbst in der Hautnarbe der Bißstelle, ohne daß sich dabei irgendeine Regelmäßigkeit nachweisen ließe, wie etwa in Medulla oder Amonshorn usw. Ich führe diesbezüglich einige Fälle an[1]:

1. **Fall** St. 1912.
   Uebertragung (wahrscheinlich Medulla, nicht vermerkt).
   1. 12. geimpft
      a) subdural, 25. 12. Lyssa.
      b) „ 25 12. „
      c) subkutan, 16. 4. Lähmungen der Hinterhand, 20 Tage krank, † 6. 5.
         Davon subdural Kaninchen nach 4 Tagen Lähmungen,
         „ Meerschweinchen subkutan, rasende Wut nach 14 Tagen.
   Spinalflüssigkeit:
   Subdural verimpft 1. 12.
      a) am 24. 12. Streckkrämpfe, Dyspnoë, Lähmungen der Hinterhand, † 1. 2.
   davon b) fragliche Lyssa 17. 3.
      c) „ „ 7. 4.
      d) Lähmung der Hinterhand, Streckkrämpfe, 18. 5.
      e) typische Lyssa, 14. 7.
2. **Fall**, Josef S., geimpft, an Wut gestorben 13. 4. 1913.
   14. 4. Uebertragung von
      1. Ventrikelflüssigkeit subdural, 16. 6. Ausfall der Haare, abgemagert, 21. 6. Lyssa (62 Tage).
      2. Cerebrospinalflüssigkeit subdural, 28. 5. Ausfall der Haare, abgemagert, 10. 6. Lyssa (57 Tage).
      3. Medulla subdural, 1. 6. krank, 10. 6. † Lyssa (57 Tage).
      4. Nebenniere subdural a) Lyssa 23. 4. (9 Tage),
         b) „ 25. 5. (41 „).

3. **Fall**, Elfriede B., gebissen 20. 8. 1913, am 3., 4. und 5. 9. geimpft, erkrankt am 6. 9. an Angina phlegmonosa, stirbt 13. 9. interkurrent.

---

1) Es wäre nach alledem möglich anzunehmen, daß das Virus in verschiedenen Partien des Zentralnervensystems nicht überall das gleiche Entwicklungsstadium erreicht hat. Nur das voll ausgereifte Virus erzeugt vielleicht typische Krankheitsbilder, wogegen die Verimpfung von Gewebsteilen, in denen sich unvollkommen entwickeltes, nicht völlig ausgereiftes Virus vorfindet, bei der Uebertragung zufolge von Abschwächung andere Krankheitsbilder hervorruft (konsumptive Formen?).

Exzidierte Hautnarbe des Oberschenkels (24 Tage nach dem Biß) am 14. 9. einem Meerschweinchen subkutan verimpft. 27. 9. typische Lyssa.

Jene Tiere, die mit Ammonshorn, Medulla und Kleinhirn injiziert werden, erkranken, resp. sterben unter Abmagern, Lähmungen etc., aber keineswegs an typischer Lyssa [1]).

Diese zumeist bei Erstübertragungen direkt von Lyssa infizierten Menschen und noch dazu häufig bei subkutaner Einverleibung des Virus beobachteten Krankheitsbilder, die so sehr verschieden vom typischen Bilde der rasenden oder stillen Wut beim Versuchstiere auftreten, sind doch gewiß auffallend, um so mehr als sie von geimpften wie nichtgeimpften Personen erzielt werden können.

In jenen Fällen, wo es bei den Verstorbenen noch gar nicht zum Ausbruche der Lyssa gekommen war (interkurrent Delirium, Sepsis), könnte man ohne weiteres an die Uebertragung einer noch nicht völlig entwickelten Zwischenform des Erregers, ebenso vielleicht bei manchen Negri-negativen Fällen denken. Aehnliches könnte man annehmen, wo solche Krankheitsbilder nach Ueberimpfung von Lumbal- oder Ventrikelflüssigkeit aufgetreten waren. Aber all diese Annahmen reichen nicht zur vollen Erklärung aus, ebenso wie wir nichts darüber wissen, wieso eine Passageserie desselben Virus rasende, die andere stille Wut oder ganz eigene Krankheitsbilder erzeugt, warum wir einmal Negri-Körperchen bei ausgesprochener Wut finden, ein andermal nicht. Wir wissen nichts darüber, warum einmal das Lyssavirus fast überall im Organismus, ein andermal nur in bestimmten Anteilen desselben nachweisbar ist. Aber solange wir dies nicht erweisen können, darf man wohl den Hauptgrund hierfür in Eigentümlichkeiten und Verschiedenheiten des Virus selbst und seiner Entwicklung suchen, in der Verschiedengestaltigkeit jeweiliger Lebensäußerungen, wie wir sie im Vorstehenden für das Straßenvirus darzulegen versuchten. Daß es solche Verschiedenheiten bei dem im Organismus bereits sich ausbreitenden Virus selbst tatsächlich gibt, erscheint mir nach dem Vorausgesagten ziemlich sicher. Wie könnten wir uns sonst jenen eigentümlichen Fall erklären, wo die Uebertragung nach interkurrentem Todesfall aus der Bißstelle im Versuchstiere echte Wut erzeugt, jene aus den typischen Prädilektionsstellen der Wuthaftung nur Lähmungen oder unbestimmte Krankheitssymptome mit unklarer Todesursache, die sich aber fortimpfen lassen. Wie konnte jener schutzgeimpfte Kutscher nach 500tägiger Inkubation trotz durchgeführter Schutzimpfung akut an rasender Wut erkrankten, wenn nicht ganz besondere Eigentümlichkeiten in der Entwicklung und Haftung dieses Virusstammes vorhanden gewesen wären?

Und damit kehren wir zu einer unserer eingangs gestellten Fragen, zum Krankheitsbild der Myelitis und zum Virus fixe zurück.

Es erübrigt sich, hier auf das Charakteristische des Virus fixe, wodurch es sich vom Straßenvirus unterscheidet, näher einzugehen. Ich möchte nur bemerken, daß ich unser Virus, sofort als sich der erste Myelitisfall nach der Högyes-Impfmethode bei uns ereignete, prüfen ließ. Es war weder subkutan noch intramuskulär für Kaninchen pathogen, bei subduraler Infektion in Verdünnung über 1:500 nicht mehr infektiös und ebenso, wenn es 6tägig getrocknet war. Es hat sich also im Laufe der Jahre ziemlich konstant erhalten, nur hat sich die Inkubation für das Kaninchen bei subduraler Infektion im Laufe der Zeit

1) Vergl. Fußnote S. 93.

um einen Tag verkürzt, und hat es seine intramuskuläre Infektiosität verloren.

Ich habe eingangs schon jene Fälle, die den Anlaß zu dieser Abhandlung gebildet haben und bei denen wir das Virus fixe im Zentralnervensystem sowohl nach Pasteur- als nach Högyes-Impfung Verstorbener nachweisen konnten, eingehend geschildert. Da es sich hierbei teilweise auch um sicher nicht wutinfizierte Personen handelt, ist der absolut sichere Nachweis erbracht, daß Virus fixe nicht in allen Fällen schon am Orte seiner Einverleibung zerstört, daß dabei seine Gifte frei gemacht werden, und in der Folge dadurch die Ausbildung der Lyssaimmunität eingeleitet wird. Es ist vielmehr sicher, daß in gewissen Fällen das Lyssa-Virus fixe in das Zentralnervensystem gelangt, sich dort in einzelnen Teilen, und zwar verschieden stark (Quast) vermehren kann. Es bleibt also die Frage noch offen, ob es dortselbst pathogene Wirkung zu entfalten vermag, und dafür scheint mir vor allem die Tatsache zu sprechen, daß das Virus unter Umständen allen Einwirkungen des Organismus im Unterhautzellgewebe widersteht und von dort aus nach scheinbarer Inkubation ins Nervengewebe eindringend, sich dort vermehren kann. Ob dies nur in gewissen Fällen und unter welchen Bedingungen dies geschieht, darüber wissen wir ebensowenig, wie über das Wechselspiel des Auftretens der Krankheitsbilder der rasenden oder stillen Wut nach ein- und derselben Virusinfektion.

Daß wir Virus fixe, wenn es vorher getrocknet worden ist, seltener im Zentralnervensystem der geimpften Personen nachweisen können, wie bei der Högyes-Impfmethode, könnte wohl darauf beruhen, daß dieses Virus durch die Trocknung eine Veränderung erleidet, die es von letzterem unterscheidet. Möglicherweise werden die Verhältnisse dahin verschoben, daß gewises Vira zwar weniger Tendenz zur allgemeinen Vermehrung im Nervensystem zeigen, dagegen ein verstärktes Vermögen, von einem bestimmten Herde aus neurotrope Gifte, und so Fernwirkungen zu produzieren, deren vorwiegende und ausschließliche Schädigung wir in den histo-pathologischen Veränderungen mancher Lyssaerkrankungen, vielleicht gerade bei gewissen Formen der Paraplegien und Lähmungen, möglicherweise auch der Myelitiden vor uns haben. In solchen Fällen würde natürlich der Uebertragungsversuch vielfach negativ sein können, im Gegensatz zu jenen Erkrankungen, wo das Virus vorwiegend im Nervensystem zu allgemeiner Entwicklung kommt. Es wäre auch möglich, daß die produzierten Gifte, und an solche müssen wir doch auf Grund der sichtbaren Veränderungen im Rückenmarke (Neurophagie, Zellinfiltrate) und der klinischen Erscheinungen glauben, verschiedenartig sein könnten, etwa in Analogie des Diphtherietoxins und Diphtherietoxons.

Der Nachweis von Virus fixe nach durchgeführter Impfung mit Trockenmark scheint übrigens doch häufiger zu gelingen, als dies in der Literatur angegeben wurde; allerdings nicht nur unter Berücksichtigung der postvakzinalen Lähmungen, sondern wenn man auch die Uebertragungsergebnisse nach Wuterkrankung mit heranzieht. Außer unserem angeführten Falle mit positiver Uebertragung finde ich diesbezüglich wiederum in unserem alten Protokolle Aufzeichnungen, aus denen ich Nachfolgendes wiedergeben möchte.

Franz H., Arbeiter aus Pribram. Am 13. 1. 1917 von einem sicher wutkranken Hunde ins Gesicht gebissen. Impfbeginn 16. 1. 1917. 20mal mit Unter-

brechung geimpft. (Todestag und Krankengeschichte nicht angegeben; ersterer fällt wahrscheinlich laut Tierversuch etwa auf den 31. 3. oder 1. 4. 1917.)

Mit eingesandten Gehirnteilen wurden 3 Kaninchen am 4. 4. 1917 geimpft. 1) subdural am 10. 4. früh Lähmungen, abends †, 2) subdural am 11. 4. stille Wut, am 13. 4. †, histologisch negativ, 3) subkutan am 11. 4. stille Wut, am 13. 4. †.

Die Tiere erkranken demnach bei subduraler Impfung am 6.—7. Tag, ebenso bei subkutaner Impfung an stiller Wut und sterben nach 1—2 Tagen mit histologisch negativem Befunde. Da wir bei Ueberimpfung von Straßenvirus fast stets als kürzeste Inkubation 11—12 Tage nach subduraler sowohl als auch nach subkutaner Infektion sehen, so darf man wohl annehmen, daß es sich hier um eine positive Uebertragung des zur Impfung verwendeten Virus fixe handeln könnte[1]).

Karl B., 15 Jahre, Knecht aus Eichelberg, Bez. Pöggstall, Niederösterreich, wurde am 18. 1. von einem sicher wutkranken Hunde in den rechten Daumen gebissen und vom 26. 1. bis 8. 2. 1917 nach Pasteur geimpft. Am 7. 4. 1917 an Lyssa gestorben.

Mit eingesandten Teilen der Medulla oblongata und Cerebellum wurden am 10. 4. 1917 folgende Kaninchen geimpft:

I. Passage: subdural 1) am 14. 4. typ. Erschein. der stillen Wut, am 16. 4. † histologisch negativ
„ 2) am 15. 4. typ. Erschein. der stillen Wut, am 17. 4. † histologisch negativ
subkutan 3) stirbt am 17. 4. ohne deutliche Erscheinungen.

II. Passage von Kaninchen Nr. 2 am 17. 4. 1917:
subdural 4) am 22. 4. erste unausgesprochе Symptome, 28. 4. deutlich erkrankt, 30. 4. †
subkutan 5) am 22. 4. Schwäche, am 30. 4. †

III. Passage von Kaninchen Nr. 4 am 30. 4. 1917:
subdural 6) am 21. 5. stille Wut, am 22. 5. †
„ 7) „ 21. 5. „ „ „ 22. 5. †

IV. Passage von Kaninchen Nr. 6 am 30. 5. 1917:
subdural 8) am 5. 6. ohne Lyssa †
„ 9) „ 11. 6. „ „ †, Obduktionsbefund negativ.

Es ist bei diesen beiden Fällen auffallend, daß beide Personen, die an ganz verschiedenen Orten von ganz verschiedenen sicher wutkranken Hunden gebissen wurden, aber fast zur selben Zeit und mit demselben Virus geimpft worden waren, fast zur selben Zeit gestorben sind und im Zentralnervensystem ein Lyssavirus beherbergten, daß eine so auffallend kurze Inkubationszeit hatte, wie wir eine solche im allgemeinen nur bei Virus fixe zu sehen gewohnt sind[2]). Diese kurze Inkubation hält auch in der in letzterem Falle vorgenommenen zweiten Tierpassage an. Bei der 3. Passage tritt merkwürdigerweise eine verlängerte Inkubation von 21 Tagen auf, und in der 4. Passage verläuft sich die Erkrankung in eines jener schon früher besprochenen und öfters beobachteten merkwürdigen Krankheitsbilder, die ohne ausgesprochene Symptome zum Tode der Versuchstiere führen, ohne daß die Obduktion einen Aufschluß darüber geben würde. Die Inkubation betrug dabei 6—11 Tage[1]).

Wie soll man aber derartige Fälle richtig deuten? Wenn dieses Virus, das mit so kurzer Inkubation die Versuchstiere tötete, ein Straßenvirus war, dann müssen wir annehmen, daß es hochvirulent auch für

---

1) Es sind auch bei uns schon kürzere Inkubationen bei Uebertragungen von Straßenwut beobachtet worden (5—7 Tage), aber dann verhalten sich doch zumeist die Inkubationen für die einzelnen Versuchstiere verschieden und nicht so übereinstimmend wie in den angeführten beiden Fällen.

2) Diese beiden Fälle fallen in bezug auf die Impfung zeitlich genau mit einem tödlich verlaufenen Myelitisfall des Jahres 1917 zusammen, wie nachstehend angeführt wird, und was für die ganze Auffassung um so wesentlicher ist, weil der eine der beiden Fälle aus Niederösterreich, der zweite aus Böhmen, der Myelitisfall aus Wien stammte, und alle drei von sicher wutkranken Hunden gebissen, zu gleicher Zeit und mit gleichem Impfstoff behandelt waren.

Kaninchen war, und dann ist der weitere Verlauf bei den nachfolgenden Passagen nicht recht verständlich. Das gleiche gilt aber auch bei der Annahme einer ausschließlichen Virus fixe-Infektion.

Es wäre immerhin möglich, daß in beiden Fällen die an Wut verstorbenen Personen Straßenvirus und Virus fixe im Nervensystem beherbergten und möglicherweise auch an den Folgen der Doppelwirkung gestorben sind. Beide Vira wurden bei der 1. Passage überimpft, und das Virus fixe hat mit der kürzeren Inkubation für das Kaninchen das Straßenvirus zunächst überdeckt. Vielleicht kommt im weiteren Verlauf der Infektion und der Entwicklung der Vira zufolge stärkerer Vermehrungsintensität ein Dominieren eines an sich doch abgeschwächten Straßenwutvirus zum Vorschein, das ein mehr oder weniger starkes Zurückdrängen der Entwicklung des Virus fixe zur Folge hat, wodurch in der 2. Passage wohl noch die kurze Inkubation vorherrscht, bei der übernächsten Uebertragung aber schon das stärker vermehrte Straßenvirus zum Durchschlag kommt. Zuerst wirkten vielleicht im Kaninchen die Gifte des Virus fixe mit, trotzdem bei dieser Uebertragung vorwiegend Straßenvirus in einem vielleicht noch nicht vollkommen zur Ausreifung gekommenen Stadium überimpft wurde. Es wäre ja möglich, daß das Virus fixe nur in bezug auf Giftproduktion das stärkere ist, in der Entwicklungsintensität aber hinter dem Straßenvirus zurücksteht, das schließlich überwiegt, und in einem Zwischenstadium der Entwicklung überimpft, einer Abschwächung unterliegend, die eigenartigen Krankheitsbilder mit verwaschenen unausgeprägten Symptomen erzeugt. Wahrscheinlich lagen schon im Verstorbenen ähnliche Verhältnisse vor, so daß das Straßenvirus nicht zu voller Entwicklung kam.

Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß diese Erklärung etwas gezwungenes an sich hat, aber wir sahen schon wiederholt, so bei Uebertragung von Zerebrospinalflüssigkeit oder Hirnteilen interkurrent nach Wutinfektion Verstorbener, bei denen die Wuterkrankung noch nicht zum Ausbruche gekommen war, solche merkwürdige Krankheitsbilder bei den Uebertragungen zutage treten. Ueber den Entwicklungsgang des Lyssa-Virus wissen wir eigentlich gar nichts. Aber die Tatsachen, daß wir einmal mit Hirnteilen einer an Lyssa verstorbenen Person Kaninchen mit Wut infizieren können, wogegen sich die Zerebrospinalflüssigkeit ebenfalls infektiös erweist, aber bei Uebertragung ganz andere Krankheitsbilder auslöst, als wir bei Gehirnübertragung erhalten, oder daß wir bei interkurrent Verstorbenen in der Bißwunde noch typisches Straßenvirus nachweisen, im Zentralnervensystem aber erst ein Virus, das an sich ebenfalls infektiös, nur zu abortiven Symptomen oder zu konsumptiver Lyssa führt, geben doch sicherlich zu denken[1]). Der Umstand, daß hierbei die Menge des überimpften Virus, die in einzelnen Teilen des Nervensystems verschieden sein kann, eine ausschließliche

1) Dazu kommt die Tatsache, daß wir gar nicht selten bei gebissenen und geimpften Verstorbenen bei Uebertragungsversuchen, die einzelnen Versuchstiere mit ganz verschiedener Inkubation und unter verschiedenen Symptomen sterben sehen, die durch die Menge des jeweils im Impfmaterial vorhandenen Erregers allein nicht erklärt werden kann. Auch die Annahme, daß das Virus unter dem Einflusse von antirabischen Schutzstoffen, die durch die Impfung entstanden sein könnten, nur in bestimmten Geweben eine besondere Abschwächung erfahren hätten, erscheint mir zur Erklärung völlig unzureichend.

Rolle spielen könne, ist nicht stichhaltig, weil dies nur in Verzögerung der Inkubation, aber nicht im Krankheitsbilde selbst zum Ausdruck kommen sollte.

Jedenfalls ergibt sich daraus die wichtige Lehre, daß man niemals ein bei Lyssaverdacht im Versuche gestandenes und überlebendes Kaninchen späterhin zur Bereitung von Impfstoff heranziehen darf wegen der Gefahr, ein Misch-Virus zu erhalten.

Es liegt auch möglicherweise die Ursache dieser Verschiedenheit im Krankheitsbilde der Versuchstiere in einer Variabilität des Virus fixe. Daß periodische Schwankungen im Charakter der Lyssa-Vira überhaupt, wenn wir von der Inkubation als solcher zunächst absehen, vorkommen können, das glaube ich schon durch die Wiedergabe jener Versuchsreihe des periodischen Wechsels der Krankheitsbilder der stillen oder rasenden Wut gezeigt zu haben. Vom Virus fixe wissen wir heute, daß es, obwohl allgemein für Hunde subkutan nicht infektiös, in einem oder anderen Falle aber doch infektiös werden kann[1]). Unsere eingangs angeführten Krankengeschichten von Personen, die niemals wutinfiziert waren, lassen wohl ähnliche Vermutungen auch für den Menschen zu[1]), nur mit der Einschränkung, daß das Bild der Krankheitssymptome im allgemeinen vielleicht zufolge der mehr toxischen Wirkung des Virus fixe mehr den Charakter der Lähmungen, der Vergiftung trägt, doch sehen wir, wie besprochen, auch andauernde Krämpfe usw. auftreten. Die Frage, ob das Virus fixe für den Menschen gelegentlich auch bei subkutaner Injektion pathogen werden kann, müssen wir entschieden noch offen lassen. Bemerkenswert ist in dieser Beziehung das oft ganz unerklärlich gehäufte Vorkommen von Lähmungen zu ganz bestimmten Zeiten. Wenn man die in unserem Institute beobachteten und von Schweinburg veröffentlichten Myelitisfälle nach dieser Richtung hin untersucht, ergibt sich nachstehende Gruppierung:

Es wurden folgende Fälle von Myelitiden beobachtet:

1915	2 Fälle,	davon	1	aus der Impfzeit vom	27. 7.— 1. 8.	gestorben
			1	„ „ „ „	26. 7.— 8. 8.	gestorben
1916	4 Fälle,	„	1	„ „ „ „	6. 2.—18. 2.	
			1	„ „ „ „	15. 9.—28. 9.	
			1	„ „ „ „	5.10.—12.10.	
			1	„ „ „ „	ohne Datum?	
1917	1 Fall,	„	1	„ „ „ „	31. 1.—13. 2.	gestorben
	Es sind dies die oben angeführten Fälle mit jenem wahrscheinlichen Virus fixe-Nachweis, die ebenfalls im Januar desselben Jahres geimpft, mit fast gleicher Inkubation gestorben sind.				16. 1.— 6. 2.	gest. an Lyssa
					26. 1.— 8. 2.	„ „ „
1918	2 Fälle,	davon	1	aus der Impfzeit vom	13. 5.—26. 5.	gestorben
			1	„ „ „ „	24.11.— 7.12.	
1919	2 Fälle,	„	1	„ „ „ „	20. 5.—23. 6.	
			1	„ „ „ „	28. 5.—10. 6.	
1920	3 Fälle.	„	1	„ „ „ „	16. 3.— 3. 4.	
			1	„ „ „ „	28. 9.—11.10.	
			1	„ „ „ „	3.10.—16.10.	

1) Dies ist einer der wichtigen Gründe, die mich veranlaßt haben, seinerzeit gegen den Versuch Stellung zu nehmen, in Oesterreich ohne zwingenden Grund die Schutzimpfung zu dezentralisieren und zugleich die allgemeine prophylaktische Hundeimpfung einzuführen (Wien. klin. Wochenschr. 1925).

1921	4 Fälle,	davon	1	aus der Impfzeit vom	29. 5.—11. 6.	
			1	„ „ „ „	11. 9.—24. 9.	
			1	„ „ „ „	25. 9.— 8.10.	
			1	„ „ „ „	15.12.—28.12.	
1922	13 Fälle,	„	1	„ „ „ „	23. 1.—26. 1.	
			1	„ „ „ „	24. 1.— 6. 2.	
			1	„ „ „ „	26. 1.— 8. 2.	
			1	„ „ „ „	31. 1.—13. 2.	
			1	„ „ „ „	3. 2.—12. 2.	
			1	„ „ „ „	6. 3.—19. 3.	
			1	„ „ „ „	10. 3.—23. 3.	
			1	„ „ „ „	19. 4.— 6. 5.	
			1	„ „ „ „	5. 6.—18. 6.	
			1	„ „ „ „	12. 9.—25. 9.	
			1	„ „ „ „	8.11.—21.11.	
			1	„ „ „ „	21.11.—10.12.	
			1	„ „ „ „	9.12.—22.12.	gestorben
1923	8 Fälle,	„	1	„ „ „ „	18. 4.— 1. 5.	
			1	„ „ „ „	3. 5.—17. 5.	gestorben
			1	„ „ „ „	24. 5.— 6. 6.	
			1	„ „ „ „	30. 5.—12. 6.	gestorben
			1	„ „ „ „	13. 6.—26. 6.	
			1	„ „ „ „	14. 6.—27. 6.	gestorben
			1	„ „ „ „	21. 6.— 4. 7.	
			1	„ „ „ „	28. 6.—11. 7.	gestorben

Das Ergebnis dieser Zusammenstellung ist jedenfalls auffallend und zeigt, daß eigentlich der größte Teil aller von uns beobachteten Impfmyelitiden in Zusammenhang mit ganz bestimmten Impfperioden in Erscheinung treten, ein Umstand, der mir ebenfalls sehr für eine ursächliche Bedeutung des Virus fixe, resp. für Charakterveränderungen desselben in bezug auf seine Apathogenität für den Menschen zu sprechen scheint[1]). Eine ähnliche Ansicht wurde zuerst von Fermi vertreten und scheint wohl richtig zu sein.

Daß eine Umwandlung des Verhaltens möglich ist, dürfen wir aus der sicher festgestellten Tatsache schließen, daß in besonderen Fällen das subkutan einverleibte Virus in das Zentralnervensystem des Menschen einzudringen und sich dort zu vermehren und wahrscheinlich auch den Organismus zu schädigen vermag. Wie wir nämlich zeigen konnten, tritt unter uns nicht näher bekannten Verhältnissen im Gefolge der Impfungen bei ausschließlich mit Virus fixe infizierten Menschen Krankheitssymptome auf, die teils völlig dem Bilde der paralytischen Lähmungen entsprechen, in seltenen Fällen aber auch einen der Lyssa mehr oder weniger ähnlichen Verlauf (ausgesprochene Krämpfe, psychische und motorische Unruhe, erhöhte Reflexerregbarkeit, Schluckbeschwerden, Sprachstörungen, Auslösbarkeit tonischer Krämpfe durch Geräusche und Berührung) nehmen können. Dabei finden sich im Zentralnervensystem Veränderungen, die außerordentlich jenen nach echter Wutinfektion gleichen, und wobei wir, wie es scheint, gar nicht so selten, in den verschiedensten Anteilen des Zentralnervensystems den lebenden und für Kaninchen infektionstüchtigen Erreger der sogenannten Passagewut feststellen können.

Aus diesen Tatsachen scheint uns mit großer Wahrscheinlichkeit die Schlußfolgerung berechtigt, daß Virus fixe gelegentlich und unter uns nicht näher bekannten Umständen seine Apatho-

1) Es wäre natürlich sehr wünschenswert, durch vergleichende Zusammenstellung anderer Institute zu erfahren, ob dieses Ergebnis ein mehr zufälliges oder allgemein geltendes ist.

genität für Menschen bei subkutaner Einverleibung ähnlich wie für den Hund verlieren kann, also in dieser Beziehung einer Umwandlung fähig ist. Es erreicht dabei vielleicht nicht die volle Pathogenität, vielmehr die Gleichheit des Charakters des ursprünglichen Straßenvirus, so daß vielleicht noch eine besondere Disposition dazu kommen muß, und die durch dieses Virus erzeugte Krankheitsform weicht gegenüber der Straßenwuterkrankung sowohl in den Symptomen der Erkrankung als auch im histo-pathologischen Bilde (Mangel von Negri-Körperchen etc.), wenn auch nicht wesentlich, so doch merklich ab, und steht dabei dem Symptomenkomplex der stillen oder paralytischen Wut, das sind vielleicht die rein toxischen Krankheitsbilder, näher[1]).

Besonders auffallend bleibt bei den von uns beobachteten Fällen mit positivem Virusnachweis und schwersten histopathologischen Veränderungen nach Högyes Impfung die fast gleiche und von den sonst nach Pasteur-Impfung beobachteten Myelitiden abweichende Inkubation der Erkrankung vom Beginne der Schutzimpfung. Sie beträgt für die Fälle mit positivem Virusnachweis 30—34 Tage vom Impfbeginne. Da besonders die beiden letztangeführten Fälle sich zeitlich in bezug auf die Impfung sehr nahe stehen und beide diese gleich lange Inkubation aufweisen, spricht dies wohl ebenfalls für eine ursächliche Bedeutung des Impfstoffes einer bestimmten Impfperiode.

Wir glauben auch annehmen zu dürfen, daß unter dem schädigenden Einfluß des Eindringens, der Vermehrung und Giftproduktion von Virus fixe im Zentralnervensystem das Auftreten interkurrenter Erkrankungen begünstigt werden kann, wie auch umgekehrt bestehende Defekte, wie wir sie bei Neuropathen, Potatoren etc. vorfinden, sowie den Organismus treffende Traumen, z. B. Erschöpfung, Verkühlung, akzidentelle Erkrankungen, das Pathogenwerden des Virus fixe begünstigen können.

Zu alledem kommt, daß das von uns beobachtete gehäufte Auftreten von Impfschäden im Anschlusse an ganz gewisse Impfperioden, vielfach ganz unabhängig von der Art der Impfung (Pasteur, Högyes etc.) stattfindet.

Die Annahme, daß Virus fixe gelegentlich als harmloser Parasit und durch längere Zeit sich im Zentralnervensystem der Geimpften aufhalten und bei Uebertragung nachgewiesen werden kann, steht eher der Auffassung über die Apathogenität dieses Virus für den Menschen als der unseren entgegen; umsomehr, wenn wir, auch ohne dadurch eine direkte Analogie zu ziehen, auf jenen merkwürdigen Fall verweisen, in dem die Inkubation für den Ausbruch der Erkrankung von Straßenwut

1) Es wäre immerhin möglich, daß der wesentliche Unterschied des an den Kaninchenorganismus gewöhnten Virus fixe in verstärkter Toxinproduktion beruht, was wiederum bei Erkrankung im Vorherrschen der Lähmungen zum Ausdruck käme. Auffallend ist jedenfalls die Aenderung, die Virus fixe bei Uebertragung auf andere Tierarten erleidet, und daß bei positivem Negri-Befund, vielleicht dem Zeichen starker Vermehrung des Virus, die sonstigen histologischen Veränderungen weniger ausgeprägt sind. So löst das Virus fixe, auf Meerschweinchen übertragen, sehr häufig rasende Wut aus, wogegen die Kaninchen an tödlicher Lähmung erkranken. Es ist auch auffallend, daß fast alle Virus fixe trotz gleich bleibender Virulenz für das Kaninchen zuerst ihre subkutane und meist auch ihre intramuskuläre Infektionskraft im Laufe der Zeit und der Kaninchenpassagen verlieren, und nur wenige Stämme (Fermi) diese Eigenart des Straßenvirus dauernd beibehalten. Es wäre auch möglich, daß das Virus fixe durch Gewöhnung und Art der Ueberimpfung im Rückenmark, speziell in den obersten Anteilen die Prädilektionsstelle seiner Vermehrung findet.

über 500 Tage angedauert hat. Da der betreffende Gebissene unter ständiger Angst vor Lyssaerkrankung stand, ist die Annahme einer neuerlichen Infektion, die übersehen worden wäre, wohl auszuschließen. Nun wissen wir über das Lyssavirus so wenig, daß es vielleicht berechtigt ist, zu sagen, wir würden den größten Fehler dadurch begehen, daß wir vorweg annehmen, das Virus fixe sei eine unwandelbar von Straßenvirus unter allen Umständen streng abgetrennte, für Menschen apathogene Form, bei welcher jeglicher Rückschlag oder Uebergang unter allen Umständen ausgeschlossen werden kann. Dagegen sprechen zahlreiche Tierversuche mit anderen Tierarten und die Verschiedenheiten der einzelnen Virus fixe-Stämme selbst. Auch aus dem Gebiete der Blatternimpfung ließe sich manche Beweisführung gegen diese Auffassung heranziehen.

Es erübrigt sich nun nur noch diese alte, aber auf neue Tatsachen gestützte Ansicht über die mögliche ursächliche Beziehung von Virus fixe zur Impfmyelitis jenen Auffassungen, die diese Möglichkeit ausschließen, gegenüber zu stellen. Allerdings möchte ich noch einmal betonen, daß das Hauptargument für diesen letzteren Standpunkt die Tatsache bildete, daß fast alle Uebertragungsversuche von Myelitisfällen im Tierversuch bisher negativ waren und die wenigen positiven angezweifelt wurden. Dies könnte aber mit einer gesteigerten Giftproduktion und verringerten Vermehrung des Virus fixe im menschlichen Organismus zufolge einer Umwandlung im Kaninchenorganismus zusammenhängen.

Was die Möglichkeit betrifft, daß Myelitis durch abgeschwächte, sagen wir vielleicht besser, durch stärker toxinproduzierende Straßenwut hervorgerufen sei, so können wir, wenn wir die ursächliche Bedeutung der Virus fixe-Infektion für das Zustandekommen gewisser Myelitisformen anerkennen, auch diese nicht absolut von der Hand weisen, umsomehr, als z. B. Hunde sowohl nach Straßenvirus-Infektion als nach Infektion mit Virus fixe an Paraplegien erkranken können, also einem der Myelitis sehr verwandten Krankheitsbilde mit fast gleichem histopathologischen Befunde[1]). Auch verweise ich hierbei auf den serienweisen Wechsel des Auftretens von stiller und paraplegischer Wut beim Kaninchen nach Straßenvirusinfektion. Ueberdies haben wir einen Fall beschrieben, in dem die positive Uebertragung eines merkwürdig veränderten Virusstammes insofern vorliegt, als bei Tierpassagen, bei welchen die Versuchstiere nach ausgesprochener Inkubation aber ohne bestimmte Diagnose starben, im Laufe der Passage typische Lyssa-Erkrankung auftrat und so das Virus verifizierte. Ob diese Möglichkeit durch Vorgänge im Entwicklungszyklus des Virus und durch natürliche Abschwächung desselben, oder durch andere Einflüsse bedingt wurde, darüber ist es allerdings schwer, etwas Bestimmtes auszusagen. Wenn demgegenüber behauptet wird, daß eine analoge Genesung des durch Biß infizierten Tieres, wie wir sie beim Menschen nach Myelitis sehen, niemals beobachtet werde, so müssen wir zugeben, daß wir über die Möglichkeit des Vorkommens abortiver Lyssa bei Tieren, wie solche beim Menschen sich lediglich in Gemütsdepressionen etc. äußern kann, gar

1) In unseren Gegenden ist übrigens das Krankheitsbild der stillen Wut unter den Hunden in ständiger Zunahme, die rasende Wut wird immer seltener. Sehr viele Fälle bieten aber gar kein ausgeprägtes Krankheitsbild, sie verlaufen unter Staupeähnlichen Erscheinungen. Es wäre dringend notwendig, auch bei negrinegativem Befunde stets Uebertragungen vorzunehmen, da möglicherweise unter Hunden auch bei natürlicher Infektion der Myelitis verwandte Krankheitsformen gar nicht so selten vorkommen können, die vom Tierarzte nach dem klinischen Bilde allein sehr leicht übersehen werden können und auch schon nachweisbar übersehen wurden.

nichts aussagen können, weil uns die Möglichkeit einer analog genauen Beobachtung am Tiere fehlt. Dennoch liegen positive histologische Befunde auch bei Hunden vor, bei denen die behandelnden Tierärzte niemals Symptome von Wut feststellen konnten. Diese Tatsachen schließen doch gewiß nicht die Möglichkeit des Vorkommens abortiver Wut auch bei Hunden aus [1]).

Schließlich hat sich durch die letzt bekannt gewordenen positiven Uebertragungen von Virus fixe nach Myelitis die Zahl der positiven Fälle so vermehrt, daß die ganze Statistik in dieser Hinsicht verschoben erscheint. Wenn man früher annehmen konnte, daß der positive Nachweis von Straßenwut im Zentralnervensystem bei an Myelitis Verstorbenen nur der Beweis der Anwesenheit dieses neurotropen Virus bedeute, ohne daß man daraus einen Schluß auf die ätiologische Bedeutung zur Erkrankung selbst ziehen dürfe, so erfährt diese Tatsache nun doch eine ganz andere Bedeutung, nachdem man auch Virus fixe mehr oder weniger reichlich vermehrt im histopathologisch typisch veränderten Marke von an Myelitis Verstorbenen nachweisen konnte, die niemals von einem wutkranken Tiere gebissen, sondern ausschließlich schutzgeimpft worden waren.

Warum wir das Virus nicht in jedem Falle nachweisen können, hängt vielleicht nur von uns unbekannten Faktoren ab. Möglicherweise sind gerade oft die am stärksten veränderten Stellen des Rückenmarkes (Lendenmark, Landrysche Paralyse etc.) vorwiegend, vielleicht ausschließlich, durch toxische Einflüsse von Wutgiften verändert worden und das Virus fixe selbst sitzt weitab an besonderen Prädilektionsstellen. Aber gerade wenn die Anwesenheit von Virus fixe im Zentralnervensystem eine so belanglose, rein neurotrope wäre, dann mußte sich dasselbe eigentlich immer, oder doch sehr oft, nachweisen lassen.

Was die relativ kurze Inkubation für das Auftreten der Myelitiden betrifft, so erscheint sie, wenn wir als Ursache Lyssa-Virus annehmen, wenigstens für Virus fixe wohl nach der relativ massiven Infektion, besonders aber dann erklärlich, wenn wir an eine gesteigerte Toxinproduktion glauben, vorausgesetzt, daß wir im Impfmaterial überhaupt ein infektionstüchtiges Virus annehmen. Auch sind die von uns beobachteten Inkubationszeiten der angeführten Fälle mit 30 Tagen wohl ausreichend. Wir wissen ferner gar nichts darüber, ob wir jenes Virus fixe, welches sich bei an Myelitis Verstorbenen im Zentralnervensystem vorfindet, schlechtweg noch als ein abgeschwächtes für den Menschen bezeichnen dürfen [2]). Das bisherige Ergebnis bei der Uebertragung im Tierversuch spricht gewiß nicht für die Berechtigung einer solchen Annahme und über seine Beziehung zum Menschen wissen wir eben nichts. Das Virus könnte ja, wie erwähnt, abgesehen von der Pathogenität im allgemeinen, auch seinen Charakter in bezug auf Toxinproduktion etc. geändert haben, wodurch das sich äußernde Krankheitsbild naturgemäß mitgeändert wird, das könnte für Straßenwut und Virus fixe gelten, für das Entstehen stiller oder rasender Wut, je nachdem vielleicht mehr

---

1) Remissionen scheinen ja tatsächlich analog wie beim Kaninchen vorzukommen.

2) Es wäre angezeigt, zugleich mit den Kaninchen auch Hunde mit solchen Virus fixe zu impfen.

die Vermehrung in gewissen Zentren oder die Giftproduktion als solche vorherrschen würde[1]).

Ein Einwand, den Schweinburg gegen die Annahme Kochs, daß die Myelitis durch abgeschwächtes Straßenvirus hervorgerufen werde, erhebt, erscheint allerdings derzeit noch von wesentlicher Bedeutung, daß nämlich noch kein Fall von Myelitis bei Gebissenen, aber Nichtschutzgeimpften beobachtet worden sei. Dies spricht aber keineswegs gegen die Aetiologie des Virus fixe zur Myelitis, sogar zu solchen Erkrankungen, die unter ausgesprochenen Lyssasymptomen verlaufen können, wie jene 5 Fälle, die Bareggi beobachtete und die durch unseren angeführten Fall Rudolfine W., die gar nicht von einem Tiere gebissen wurde, nun ganz besonders an Bedeutung gewinnen. Auch spricht die Beobachtung Bareggis (5 gleichzeitig aufgetretene Fälle) ganz im Sinne unserer Auffassung von einer periodenweisen Aenderung des Charakters des Virus fixe, wozu natürlich auch eine gewisse individuelle Veranlagung des Geimpften notwendig sein kann, um die Ursache dieser Erkrankungen, vor allem ihre Schwere, zu bedingen. In dieser periodischen Aenderung liegt wohl auch die Hauptursache, warum die oft erhobenen, schönsten Statistiken, wir selbst könnten eine solche durch 2 Jahre nach Einführung des Högyesschen Verfahrens aufstellen, an anderen Stellen infolge plötzlicher Zwischenfälle nicht bestätigt werden können. Die Ergebnisse der jeweiligen Statistik über das Vorkommen von Lähmungen im Gefolge der Lyssaschutzimpfung sind vielleicht zum größeren Teile von Eigenarten des Virus als von der Impfmethode selbst abhängig, und so erklärt sich auch das an allen Instituten beobachtete ungleichmäßige Auftreten von Myelitiden bei gleicher Impfmethode[2]).

Der Einwand, daß Myelitisfälle auch dann beobachtet werden, wenn die Impfungen mit stark abgeschwächtem oder sogar durch Erhitzen abgetötetem Mark vorgenommen werden, würde ja nicht ins Treffen fallen, wenn wir an die Möglichkeit der ursächlichen Wirkung von abgeschwächtem Straßenvirus glauben. Der Einwand gilt nur für die Annahme einer alleinigen ursächlichen Bedeutung des Virus fixe. Aber auch hier ist der Beweis der Abschwächung am Kaninchen geprüft, nicht beweisend für die eventuelle gleichartige Wirkung im Menschen, insbesondere geprüft an der Verschiedenheit resp. Verlängerung der Inkubationszeit für das Kaninchen und für ein Pathogenwerden überhaupt. Was das Auftreten von Myelitis nach Impfungen mit solchem Marke betrifft, in welchem die Erreger durch Erhitzen abgetötet wurden, so ist wohl die Annahme berechtigt, daß es sehr wohl physikalische Vorbedingungen geben kann, die das eine oder andere Mal ein im Inneren des Markes oder in bestimmten Partien desselben gelegenes Virus vor der Einwirkung der Wärme bewahren können, genau so wie es bei Abtötungen durch chemische Einflüsse auch in Suspensionen geschehen

1) Es ist in dieser Richtung auch auffallend, daß die Lage der Negri- und der Passagewutkörperchen eine ganz verschiedene ist. Auch könnte in dieser Richtung die ständige Verimpfung von Rückenmarksteilen von Tier zu Tier die Prädilektion für den Ort der Haftung begünstigen. Auffallend ist es ferner, daß passagewutähnliche Körperchen häufig dann gefunden werden, wenn sich der Tod der Versuchstiere verzögert, das Virus also längere Zeit zur Entwicklung und Ausreifung hat.

2) Es sollten, wenn die Vermutungen richtig sind, in allen Instituten nur solche Vira zur Impfung verwendet werden, die keine Tendenz zur Charakteränderung haben, bei deren Verwendung Myelitiden nicht beobachtet wurden. Dies scheint bei Högyes der Fall zu sein.

Zur Frage der Aetiologie der postvaccinalen Lähmungen nach Wutschutzimpfungen.

Von Dozent Dr. **B. Busson.**
Vorstand der bundesstaatlichen Schutzimpfungsanstalt gegen Wut in Wien.

In letzter Zeit sind zwei Arbeiten erschienen, die auf Grund positiver Übertragungen des Lyssavirus von nach Wutschutzimpfung verstorbenen Menschen auf Kaninchen das ganze Problem der postvakzinalen Lähmungen neuerdings aufrollen und zur Diskussion stellen.

Die eine von G. Quast aus Breslau (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. H. 1) behandelt einen Fall, der sich kurz folgendermaßen schildern läßt.

Ein 33jähriger Kaufmann, der von einem nicht auf Wut untersuchten Hunde geleckt wurde, erkrankte am 14. Tage der Schutzimpfung an Kopfschmerzen und Erbrechen, so daß mit der Impfung ausgesetzt wurde. 2 Tage später Nackensteifigkeit, in kurzen Intervallen Schüttelfröste. Die Pupillen reagieren prompt, Reflexe sehr lebhaft, Babinski negativ. Starke Nackenschmerzen, Opisthotonus, Kernig ausgebildet, Tremor des Unterkiefers, Wasser wird geschluckt, aber dann heftige Brech- und Würgbewegungen. Nonne-Apelt positiv, Zellen 700 pro ccm, im Blut 14800 Leukozyten. Nach 2tägiger Erkrankung treten nachts Krämpfe aller Extremitäten und früh Exitus ein. Die Temperatur war bis auf 40,4 gestiegen.

Die Sektion ergab: Meningitis tuberculosa. Mit dem Ammonshorn wurden Kaninchen einerseits subdural, andererseits intramuskulär geimpft. Während die letzteren gesund blieben, erkrankte ein Tier von den beiden subdural geimpften Kaninchen am 5. Tag unter den Symptomen der Erkrankung durch Virus fixe und von diesem Tiere gelangen weitere Uebertragungen. Die Untersuchung auf Negri-Körperchen fiel stets negativ aus.

Quast legt sich nun die Frage vor, ob das Vorkommen von Virus fixe im Gehirn schutzgeimpfter Personen konstant sei, oder ob im vorliegenden Falle lediglich die bestehende tuberkulöse Meningitis das Gehirn zu einem locus minoris resistentiae gemacht habe, so daß das Virus fixe besser haften konnte.

Angeregt durch die von Paltauf vertretene Ansicht, daß sich Lyssavirus längere Zeit im Zentralnervensystem halten könne, ohne Erscheinungen zu machen, und auf Grund des beobachteten Falles impfte Quast Hunde mit Virus fixe und konnte durch gelungene Übertragungsversuche des Hirns der gesunden Hunde auf Kaninchen den Nachweis erbringen, daß sich das Virus fixe tatsächlich im Zentralnervensystem, wenn auch jeweils in verschiedener Menge bei geimpften Hunden nachweisen läßt, ohne daß es zu Krankheitserscheinungen gekommen war. Quast schließt demnach, daß das Virus fixe seinen Weg ins Zentralnervensystem nimmt und dort latent bleibt, bis es schließlich abgebaut wird. Er glaubt ferner annehmen zu dürfen, daß das im Zentralnervensystem liegende Virus fixe eben dieses Organ selbst zur Antikörperbildung anregt, die dann eventuell hingelangendes Straßenvirus binden[1]).

1) Mit dieser Auffassung steht die Tatsache im Widerspruch, daß es noch nicht gelungen ist, Versuchstiere so zu imunisieren, daß sie bei intraduraler Reinfektion gesund geblieben wären.

Die 2. Arbeit stammt aus Bandoeng in Java von J. van den Hoven van Genderen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 105. H. 2), der wir zunächst entnehmen, daß bei den Impfungen im dortigen Institute auf 13396 Impflinge 21 Fälle von postvakzinalen Lähmungen vorkamen, unter denen 19 Europäer waren. Von 1895 bis 1906 wurde nach dem Verfahren Pasteurs und seit 1906 nach jenem von Högyes geimpft. Van den Hoven weist nun aus der Statistik nach, daß sowohl zu Anfang der Pasteur-Impfung bis 1900 und ebenso bei der 1. Högyes-Methode keine Lähmungen vorgekommen sind. Diese kamen in beiden Fällen erst zur Erscheinung, als intensivere Impfmethoden angewendet wurden, resp. als bei der Pasteurschen Methode mit der Impfung des eintägigen Trockenmarkes zu früh, und zwar am 4. Tage, begonnen wurde, oder die Högyes-Impfungen zu stark dosiert und die Intervalle zu sehr gekürzt worden waren.

Van den Hoven bespricht 19 postvakzinale Lähmungen, von denen 12 gebissen, 5 geleckt, 2 aber sicher nicht mit tollwutkranken Tieren in Berührung gewesen waren. Von diesen starben insgesamt 5 Personen, 3 davon, die uns deshalb besonders interessieren, kamen zur Obduktion.

1) Fall im Jahre 1900. Ein Seemann, wahrscheinlich von einem tollen Hunde gebissen, wird nach Pasteur geimpft. Die ersten Krankheitserscheinungen 9 Tage nach der Impfung. Fieber, Schmerzen im Bauch, Paraesthesien, nach 2 Tagen Retentio urinae et alvi, Knie- und Fußsohlenreflexe gesteigert, Hyperästhesien an Beinen und Bauch. Schwere Cystitis. Obduktion: Tbc. in verschiedenen Organen, diphtheritisch-nekrotische Zystitis. Hirn und Rückenmark normal, keine Erweichungen. Uebertragungsversuche negativ.

2) Der 2. Fall betrifft einen 12jährigen Knaben, der 1912 von einem Affen gebissen wurde, der sich frei in den Gartenbäumen aufhielt und nach dem Biß längere Zeit verschwunden war. Er soll sicher nicht wutkrank gewesen sein, weil er später wieder von den Angehörigen gesehen (?) wurde.

Am Ende der Impfungen erkrankte der Knabe unter Fieber, Erbrechen, Retentio. Erlöschen der Patellarreflexe. Aber die Motilität der Beine war nicht gestört, er lief herum, bis er plötzlich Krämpfe bekam und unter „cri cerebrale" zusammenstürzte. Temperatur bis 41,7, abends Koma, Exitus.

Im Rückenmark Veränderungen wie bei Lyssa. Bei Uebertragungsversuchen mit dem Gehirn erkrankten die Kaninchen am 4. Tag und am 6.—7. Tag.

3) Fall: Im Jahre 1916 wurde ein Soldat nach verstärkter Högyes-Methode geimpft, der von einem sicher wutkranken Hunde gebissen worden war, und im Gefolge der Impfung erkrankte. Die Symptome äußerten sich in motorischer Unruhe. Der Patient stöhnt und schreit, es tritt Erbrechen auf, Pupillen sind eng und reagieren nicht, Temperatur 41,7. Exitus am 5. Tag. Malariaplasmodien im Blute. Im Hirn (Rinde) keine Negri-Körperchen nachweisbar. Uebertragungsversuche auf Kaninchen und Affen positiv. Die Tiere sterben in 5—8 Tagen an Erscheinungen der Virus fixe-Infektion. Es wird dann noch ein vierter Fall angeführt, der ein nach der Methode Högyes geimpftes eingeborenes Mädchen betrifft, das ebenfalls Malariaparasiten im Blute hatte. Die Uebertragungsversuche mit dem Gehirn der Verstorbenen waren positiv, bei den erkrankten Kaninchen fanden sich negriähnliche Körperchen im Gehirn, was van den Hoven aber auch sonst bei Virus fixe-Infektion beobachten konnte, wenn der Tod der Tiere verzögert eintrat.

Van den Hoven kommt zu verschiedenen Konklusionen. Aus der Inkubationszeit der postvakzinalen Lähmungen, die bei Pasteur-Impfungen durchschnittlich nach 9—19 Tagen, bei Högyes nach 11—25 Tagen auftreten, schließt sie zunächst, daß die Ursache der Erkrankungen in der Impfung selbst gelegen sein müsse. Die letzte Ursache dabei aber sei das Virus fixe selbst, das dann zu Erkrankungen, zu postvakzinalen Lähmungen führe, wenn, wie bei zu intensiver Impfung, eine gewisse Quantität des eingeimpften Virus fixe über-

schritten werde. Auf Grund ihrer Statistik führt sie diesen Nachweis und schlägt vor, nur eine Menge von 30 mg Impfstoff nach der Högyes-Methode innerhalb 2 Wochen zu verwenden, weil diese Quantität auch von neuropathischen Individuen vertragen werde. Aus der Statistik der Lähmungen, wonach unter 21 Fällen sich 19 Männer finden, schließt van den Hoven, daß Frauen und Kinder eine viel geringere Empfindlichkeit gegen die Schäden des Virus fixe aufweisen als Männer.

Die Publikation dieser vorausgestellten, für die Lyssafrage so außerordentlich wichtigen Beobachtungen hat mich nunmehr veranlaßt, nachstehende im Wiener Institute zur Beobachtung gekommene Fälle ebenfalls zu fachmännischer Diskussion zu stellen, da sie vielleicht mit dazu beitragen können, das Dunkel dieser Frage aufzuhellen. Es handelt sich insgesamt um 4 Fälle, von denen einige ganz besonderes Interesse verdienen.

1) Anna G., eine 62jährige Frau, wurde am 9. 8. 1923 von einer auf Wut fraglichen Katze in den rechten Daumenballen gebissen und vom 13. 8.—17. 8. geimpft. Die Impfung wurde unterbrochen, da die Katze angeblich gesund war. Es soll sich aber herausgestellt haben, daß das beißende Tier eine andere, wutverdächtige Katze gewesen war, und deshalb wurde die Impfung am 20. 8. wieder aufgenommen und bis 29. 8. fortgesetzt. Geimpft wurde nach Pasteur. Später soll die Katze angeblich doch gesund befunden worden sein. Am 26. 9., also 18 Tage nach beendigter Impfung erkrankte Patientin angeblich mit Fieber, Kreuzschmerzen, Schmerzen in den Händen, kein Erbrechen. 2 Tage später stellen sich Atembeschwerden ein. Pat. hat Schwierigkeiten beim Sprechen. Bei der Spitalaufnahme wird neben bronchitischen Erscheinungen folgender Befund erhoben: Abdomen etwas vorgewölbt, Milz und Leber nicht tastbar. Pat. kann schlecht sprechen, läßt Harn und Stuhl unter sich. Motorische Kraft der oberen und unteren Extremitäten herabgesetzt, besonders rechts. P.S.R. fehlt beiderseits. Babinski negativ, keine Facialisparesen, Bauchdeckenreflex fehlt. Puls 126. Nachmittags große Hinfälligkeit, reichliches Rasseln über beiden Lungen, abends Exitus. Die Obduktion ergibt als Todesursache Emphysem, Myodegeneratio cordis, Bronchitis chronica difusa[1]).

Uebertragungsversuche mit dem Hirn auf 3 Kaninchen:

a) geimpft subdural mit Amonshorn 24. 9., erkrankt 28. 9., Exitus 2. 10.,

b) geimpft subdural mit Medulla 24. 9., erkrankt 9. 10., Exitus 11. 10.,

c) geimpft subkutan, bleibt dauernd gesund.

Im Hirn und Rückenmark der Passage-Kaninchen konnten weder Negrische- noch Passagekörperchen festgestellt werden. Dagegen findet sich allenthalben mäßig intensives perivaskuläres Infiltrat und Infiltration der Meningen, neben schweren degenerativen Veränderungen der Ganglienzellen im Verlaufe des ganzen Rückenmarkes.

2) Julie H., 54 Jahre alt, wurde am 16. 1. 1924 von einem an sich bissigen Kater, der sich in der Folge als nicht wutkrank erwies, in den rechten Unterarm gebissen. Da die Katze nach dem Bisse entlaufen war, und erst 14 Tage später wiederkehrte, wurde am 21. 1. mit der Impfung nach Högyes begonnen und diese am 2. 2. beendet. An der Bißwunde entwickelte sich eine Phlegmone, die erst am 20. 2. ausheilte.

Am 25. 2. erkrankte H. plötzlich unter Schüttelfrost mit heftigen Krämpfen im Oberbauch und Schmerzen im Kreuz, die auch bis zum Tage der Spitalaufnahme am 28. 2. andauerten. Schon am folgenden Tage bemerkte Patientin, daß die Füße so schwach wurden, daß sie das Bett nicht verlassen konnte. Kein Erbrechen, Stuhlverhaltung, Urin dunkel. Bei der Spitalsaufnahme wurde kurz folgender Befund erhoben. Gut genährt, Pupillen reagieren prompt, kein Nystagmus, Hirnnerven frei, Sensorium klar. Rechter Arm motorisch schwächer als linker. Paraparese der Beine. Bauchdecken- und Patellarsehnenreflexe nicht auslösbar. Sensibilität der unteren Extremitäten für Tastsinn herabgesetzt, für Temperatur und Schmerzsinn normal. Zeigefinger-Nasenversuch leicht positiv. Leichte Ataxie, Sprache etwas undeutlich früher angeblich normal. Leichteste Bronchitis. Puls 114, Temperatur 37. Abdomen

1) Leider fehlt bei diesem auf Myelitis höchst verdächtigen Fall jedweder Sektionsbefund über das Zentralnervensystem und das eventuelle Vorhandensein von Negri-Körperchen.

schlaff, im rechten mittleren Oberbauch Druckempfindlichkeit, Milz und Leber nicht palpabel. Stuhl und Harnentleerung normal. Am nächsten Tage ist Patientin sehr apathisch, Sensorium im allgemeinen noch klar, Sprache ganz undeutlich und langsam, Schluckbeschwerden. Nystagmus horizontalis und verticalis. Parese der Augenmuskeln. Linker Mundwinkel herabhängend. keine Nackensteifigkeit, kein Kernig. Die Beinmuskeln ein wenig rigid. Hochgradige Parese der oberen Extremitäten, links stärker als rechts. Die Herabsetzung der Sensibilität erstreckt sich jetzt auch auf die oberen Extremitäten. Reflexe der oberen Extremitäten herabgesetzt aber noch deutlich vorhanden, beinahe vollkommene Lähmung der unteren Extremitäten, nur die Zehen sind gering beweglich, Sensibilität der unteren Extremitäten aufgehoben, Reflexe erloschen. Geringe Blasen- und Mastdarmstörungen. Temperatur 37,2. Puls 124. Respiration 36, oberflächlich und unregelmäßig. Am nächsten Tag trat unter Somnolenz rasch zunehmender Verfall ein. Schüttelfrost. Temperatur 38,7, Puls 140 Gaumensegel hebt sich nicht, kein Würgreflex. Exitus.

Obduktion: Akute Myelitis im Bereiche des ganzen Rückenmarkes und der Medulla, im Mark stellenweise vollkommene Erweichung, überall aber im Querschnitt vorquellend. Besonders hochgradige Veränderungen im Lenden- und Brustmark. Anscheinend jüngere Entzündung und Bildung grauröltlicher Herde im Halsmark und Medulla oblongata. Hyperämie der Meningen. Mäßiges Hirnödem, geringe Schwellung der Milz, Pulpa zerfließlich.

Uebertragungsversuche auf Kaninchen:

a) Amonshorn subdural 3. 3., stirbt an Meningitis 5. 3.
b) Brücke subdural 3. 3., erkrankt 11. 3. Lyssa, am 15. 3. †.
c) Medulla subdural 3. 3., stirbt an Sepsis 5. 3.
d) karbolisiertes Amonshorn subdural geimpft 6. 3., am 15. III. krank, 16. 3. Lyssa, 18. 3. †.
e) karbolisierte Medulla subdural geimpft 6. 3., am 13. 3. krank, 14. 3. Lyssa, 16. 3. †.

Weitere Passagen positiv.

Im Hirn und Rückenmark der Passage-Kaninchen konnten weder Negrische noch Passagekörperchen fetgsestellt werden. Dagegen findet sich allenthalben, besonders schön aber im Pons perivaskuläres Rundzelleninfiltrat, das breitmantelförmig die Gefäßlumina umgibt, wie es sonst bei Encephalitis lethargica charakteristisch ist. Die degenarativen Veränderungen an den Ganglienzellen etwas weniger ausgesprochen.

3) Ein 15jähriges Mädchen, Rudolfine W., meldete sich zur Schutzimpfung, da sie angeblich von einem unbekannten Hunde gebissen worden sei. Sie hatte an der Vorderseite des linken Oberschenkels eine oberflächliche Exkoriation mit Hämatom. Die Impfung nach Högyes wurde am 22. 6. 1925 begonnen und am 6. 7. beendet. Erst im Zuge eines gerichtlichen Verfahrens stellte sich nachträglich auf Grund einer Anzeige heraus, daß das Mädchen gar nicht von einem Hunde, sondern im Bade von einem jungen Manne im Scherze gebissen worden war. Das Mädchen hatte, da sie sich vor den Folgen dieses Bisses fürchtete und den wahren Grund nicht angeben wollte, die Erzählung von einem Hundebisse erfunden, um zur Impfung zugelassen zu werden.

3 Wochen nach durchgeführter Impfung erkrankte Pat. mit hohem Fieber, starken Kopf- und Halsschmerzen, ferner Schluckbeschwerden. Appetit war schlecht, Pat. mußte öfters erbrechen, es bestand allgemeines Unwohlsein und Magenschmerzen. Vor $^3/_4$ Jahren stand Pat. wegen eines Lungenspitzenkatarrhs in Behandlung, war sonst gesund. Pat. wurde am 3. Tage der Erkrankung in ein Spital aufgenommen, wo nachstehender Befund erhoben wurde:

Mittelgroß, mittelkräftig, guter Ernährungszustand. Conjunctivitis und starke Rötung der Rachengebilde. Beide Tonsillen entzündlich gerötet, geschwollen, über der linken Tonsille ein Eiterpfropf sichtbar. Ueber beiden unteren Lungenpartien leicht verschärfte Atmung. Herzbefund, Abdomen normal.

Es besteht Nackensteife und Opisthotonus. Krampfzustände und tetanische Krämpfe in der ganzen Muskulatur. Chvostek rechts positiv, Trousseau negativ.

Am nächsten Tag hat Pat. den ganzen Tag ununterbrochen Krämpfe an Armen und Beinen von ca. 1—2 Min. Dauer, dabei sind beide Handgelenke rechtwinklig volar flektiert. Die Sprunggelenke maximal plantar flektiert, Knie- und Ellenbogengelenke immer gestreckt. Pat. nimmt Wasser und Medizin, sie stöhnt und schreit fortwährend. Die Krämpfe dauern auch die ganze Nacht über an. Dabei verliert Pat. während der Krämpfe Urin. Am übernächsten Tag in der Frühe beginnen die Krämpfe zu sistieren, Pat. ist stark benommen, die Herzaktion frequent, Puls gut gespannt. **Jede Bewegung oder Berührung der Patientin** (Um-

schlagwechseln, Pulsfühlen) lösten tonischen Krampf aus, ebenso Geräusche.

Vormittags tritt Cheyne-Stokesches Atmen auf. Deutliche Paraplegie der Extremitäten, Sehnenreflexe fehlen.

Um 2 Uhr nachmittags wird die Atmung sehr langsam, die Zyanose nimmt zu. Auf Brust und Oberbauch treten rote Flecken auf. Puls gut gespannt. Gegen 8 Uhr abends zunehmende Lähmung des Atemzentrums, die roten Flecken verschwinden. Am nächsten Tag trat Exitus ein. Die Temperatur betrug bei der Einlieferung 38,5, stieg am nächsten Tag über 40 und hielt sich ständig über 39°. Die Diagnose lautete Tetanie? Poliomyelitis anterior akuta?

Die Sektion ergab eine hochgradige zentrale Erweichung des Rückenmarkes mit punktförmigen Blutaustritten im Bereiche der grauen Substanz. Oedeme und mäßigen Hydrocephalus internus im Großhirn, trübe Schwellung der parenchymatösen Organe, fettige Degenerationsherde in der Niere, vereinzelte bronchopneumonische Herde von Aspirationscharakter in beiden Unterlappen. Septische Erweichung der Milzpulpa. In der linken Tonsille eingedickter Eiterpfropf von Hanfkorngröße, katarrhalische Enteritis mit leichter Schwellung der Payerschen Plaques. Diagnose: Poliomyelitis acuta anterior.

Die histologische Untersuchung des Gehirns und Rückenmarks ergab folgenden Befund: Diffuse infiltrierende Entzündung der ganzen Substanz im Verlauf des ganzen Rückenmarks und der Medulla oblongata, die besonders intensiv am Boden des IV. Ventrikels entwickelt ist. Die meist perivaskulär angeordneten Infiltrate bestehen fast durchwegs aus lymphozytären Elementen neben spärlich polynukleären Leukozyten. Auch die weichen Hirnhäute entzündlich infiltriert. Am Boden des IV. Ventrikels reichlich kapilläre Hämorrhagien. Herdweise finden sich die gleichen Veränderungen auch im Gehirn. Die Ganglienzellen weisen im Bereiche der Entzündung starke degenerative Veränderungen auf, Schwellung, Kernzerfall, fettige Entartung. Es besteht demnach das Bild einer akuten difusen Polioencephalitis und Poliomyelitis, ohne daß aus dem histologischen Befunde ein Anhaltspunkt für die Aetiologie des Prozesses sich gewinnen ließe.

Uebertragungsversuche: Zwei Kaninchen Nr. 36 und Nr. 39 wurden am 3. 8. mit dem frischen Hirn subdural geimpft. Kaninchen Nr. 36 erkrankt am Abend des 7. (10. 8.) Tages an deutlichen Erscheinungen stiller Wut resp. einer Virus-fixe-Lyssa. Exitus am 13. 8. Nr. 39 erkrankt schon am 4. Tage (7. 8. nach der Impfung mit Parese der Hinterbeine, am 7. Tage (10. 8.) Zittern des Kopfes, Gleichgewichtsstörungen, leichte Lähmung auch der Vorderhand. 11. 8. deutliche Lyssa. Exitus am 13. 8. Bei einer zweiten Passage von diesen beiden Tieren erkranken die betreffenden Versuchstiere je am 7. Tag an typischer Virus fixe-Lyssa resp. stiller Wut.

4) Josef B. wurde am rechten Handrücken und am Mittelglied des rechten kleinen Fingers am 9. 8. 1925 von einem unbekannten Hunde gebissen. Die Impfung nach Högyes wurde am 10. 8. begonnen und am 18. 8. durch Fernbleiben des Patienten unterbrochen. Es muß bemerkt werden, daß Pat., der bei einer Pionier-Abteilung in der Nähe Wiens diente, wiederholt schweißbedeckt und abgehetzt zur Impfung kam, da er angeblich mittels Rad von seinem Garnisonorte zur Impfung fahre. Am 7. 9., also 20 Tage nach der letzten Impfung fiel Josef B. beim Pontonbau herunter, konnte sich aber erhalten und wies keinerlei äußere Verletzung auf. Er ging selbst nachhause und erkrankte abends mit Fieber und Kreuzschmerzen. Am nächsten Tage, am 8. 9. wurde er ins Spital gebracht. Es bestand Müdigkeit der Beine, keinerlei objektive, auch keine neurologischen Befunde. Temperatur 38,3.

9. 9.: Temperatur 37,3. Kontinuierliches Erbrechen, Benommenheit, Paraparese der beiden unteren Extremitäten, beiderseits Klonus, Babinski links, Sehnenreflexe erhalten, Hyperalgesie von 2 Querfinger unterhalb des Nabels abwärts.

10. 9. vollkommen benommen, Paralyse der Beine mit erloschenen Reflexen, Temperatur 39,3, agonal. 11. 9. 3 Uhr früh Exitus. Im Spital wurden weder Krämpfe noch Cheyne-Stokesche Atmung oder Schlingkrämpfe beobachtet.

Die Sektion ergab: Bronchopneumonie[1]). Diffuse eitrige Bronchitis, parenchymatöse Degeneration der Leber. Hyperämie und akutes Oedem des Gehirnes. Sonst am Gehirn und Rückenmark kein makroskopischer Befund. Histologisch finden sich im Verlaufe des ganzen Rückenmarkes, am intensivsten im Lendenmark, gegen das Halsmark kontinuierlich an Intensität abnehmend, ausgedehnte, fast durchweg perivaskulär angeordnete Rundzelleninfiltrate, sowie vereinzelte kapillare Hämor-

---

1) Es ist auffallend, daß in allen Fällen die bronchopneumonischen Erschei- [illegible] -treten. Möglicherweise deutet dies auf frühzeitige Schädigung des Atem- [illegible].

rhagien und schwere degenerative Veränderungen an den Ganglienzellen (Tigrolyse, Kernzerfall, Neuronophagie etc.). In der grauen Substanz des Rückenmarks sind stellenweise die entzündlichen Infiltrate auch mehr diffus entwickelt. Die Gefäße sind überall maximal erweitert und prall mit Blut gefüllt. Die gleichen Veränderungen, nur geringer an Intensität, finden sich auch in den Stammganglien des Großhirns. Auch die Gehirnsubstanz ist stark hyperämisch. Hie und da kommen auch hier kapilläre Blutaustritte zur Ansicht. Die Untersuchung auf Negrische Körperchen, insbesondere auch in den Amonshörnern, hatte ein durchaus negatives Ergebnis. Diagnose: akute Polioencephalitis ohne Anhalspuunktt für die Aetiologie des Prozesses. Die Intensitätsabstufungen der entzündlichen Veränderungen im Rückenmark sprechen eher für eine nach Art der Landryschen Paralyse ablaufenden Erkrankung als für Lyssa.

Uebertragungsversuch: Ein Kaninchen mit frischer Brücke intradural am 11. 9. 25 geimpft, erkrankt am 17. 9. deutlich an stiller Wut resp. an Virus fixe-Lyssa. Exitus am 20. 9. 25.

Ein Kaninchen intradural infiziert am 11. 9. 25 mit frischem Amonshorn, erkrankt am 17. 9. an stiller Wut resp. an typischer Virus fixe-Lyssa. Exitus am 20. 9.

Ein Kaninchen am 17. 9. intradural geimpft mit Glyzerin-Rückenmark erkrankt am 23. 9. früh typisch, wurde nachmittags getötet für andere Untersuchungen.

Wenn wir die im vorstehenden wiedergegebenen Krankengeschichten und Obduktionsbefunde kurz auf die für unsere Frage in Betracht kommenden Tatsachen zusammenfassen, so ergibt sich folgendes: 1) In dem von Quast angegebenen Falle erkrankt ein von einem nicht auf Wut untersuchten Hunde geleckter Mann am 14. Tage der Schutzimpfung unter Erscheinungen, die keineswegs einer postvakzinalen Lähmung entsprechen, und stirbt. Die Sektion ergibt tuberkulöse Meningitis. Im Gehirn wird durch Tierversuch Virus fixe nachgewiesen.

Die 4 Fälle van den Hovens charakterisieren sich folgendermaßen: 2) Ein nach Pasteur geimpfter, wahrscheinlich von einem tollen Hunde gebissener Mann erkrankt 9 Tage nach der Impfung unter ähnlichen Erscheinungen, wie wir sie bei postvakzinalen Lähmungen sehen, stirbt aber, wie die Sektion ergibt, wahrscheinlich an den Folgen einer Sepsis. Hirn und Rückenmark normal. Lyssavirus ist im Nervensystem nicht nachzuweisen. — 3) Ein Knabe, von einem angeblich gesunden Affen gebissen, erkrankt am Ende einer Högyes-Impfung unter Symptomen, die nicht denen einer postvakzinalen Lähmung entsprechen und stirbt. Im Rückenmark Veränderungen wie bei Lyssa. Im Gehirn Virus fixe durch Übertragung nachgewiesen. — 4) Ein Soldat, von sicher wutkrankem Hund gebissen, erkrankt im Gefolge der Högyes-Schutzimpfung und stirbt unter Erscheinungen, die nicht dem gewohnten Bilde der Lähmungen entsprechen. Nebenbei bestand Malaria. Im Gehirn durch Übertragung Virus fixe nachgewiesen. — 5) Ein eingeborenes, ebenfalls an Malaria erkranktes Kind, nach unicherer Wutinfektion nach Högyes geimpft, erkrankt, stirbt unter unklaren Symptomen, und im Gehirn läßt sich Virus fixe nachweisen. Daran reihen sich unsere 4 Fälle: 6) Eine 62jährige Frau, von unsicherer Katze gebissen, nach Pasteur schutzgeimpft, erkrankt anscheinend interkurrent 18 Tage nach der Impfung und stirbt. Virus fixe im Zentralnervensystem durch Uebertragung festgestellt. 7) 54jährige Frau, von sicherlich nicht wutkranker Katze gebissen, nach Högyes geimpft, erkrankt 23 Tage nach der Schutzimpfung unter Erscheinungen postvakzinaler Lähmung und stirbt. Erweichungen im Rückenmarke, Vorhandensein von Virus fixe durch positive Uebertragung sicher-

gestellt. — 8) Junges Mädchen, bei welcher Wutverdacht absolut ausgeschlossen ist, erkrankte 21 Tage nach der Högyes-Impfung unter den Erscheinungen von Tetanie, keineswegs aber an jenen einer postvakzinalen Lähmung. Im Zentralnervensystem hochgradige Erweichung, Anwesenheit von Virus fixe im Zentralnervensystem durch positiven Tierversuch erwiesen. — 9) Soldat, von unbekanntem Hunde gebissen, erkrankt am 20. Tage nach abgebrochener Högyes-Impfung unter Erscheinungen postvakzinaler Lähmung und stirbt. Typische Veränderungen im Zentralnervensystem und Nachweis der Anwesenheit von Virus fixe durch positiven Tierversuch erbracht.

Aus diesen angeführten Fällen ergibt sich zunächst die außerordentlich wichtige Tatsache, daß, ausgenommen in dem Falle 2 von van den Hoven, also in 8 Fällen nach Lyssaimpfung sich das Vorhandensein von Lyssavirus, und zwar in Form des Virus fixe, wie es zur Impfung verwendet wurde, durch positiven Tierversuch hat nachweisen lassen.

Quast schließt daraus, daß sich Virus fixe längere Zeit im Zentralnervensystem aufhalten könne, van den Hoven folgert aus den von ihr wiedergegebenen Fällen, daß das im Zentralnervensystem gefundene Virus fixe die direkte Ursache der Erkrankung und deren Folgen war.

Bevor ich in die Diskussion eingehe, möchte ich aus unseren Fällen die wichtige Tatsache hervorheben, daß es in einem nach Pasteur geimpften Falle, der nicht unter auf Lyssa, wohl aber auf Myelitis verdächtigen Erscheinungen zum Exitus gekommen ist, einwandfrei gelungen ist, die Anwesenheit des Virus fixe nach Pasteur-Impfung im Zentralnervensystem, und zwar 18 Tage nach durchgeführter Impfung, durch gelungenen Tierversuch nachzuweisen.

Weiter führen wir 2 Fälle 7 und 8 an, die sicher nicht von wutkranken Tieren gebissen wurden, und unter auf Impfschäden hochverdächtigen Erscheinungen erkrankten und bei denen ebenfalls Virus fixe nach Högyes-Impfung im Zentralnervensystem der Verstorbenen nachgewiesen wurde, wie dies auch van den Hoven für zwei ihrer Fälle angibt. Bei allen anderen Fällen mit positiver Übertragung war das beißende Tier verdächtig oder unsicher.

Es ist uns also gelungen, Virus fixe auch nach vorausgegangener Pasteurscher Impfung nachzuweisen, und ist dies vielleicht der erste sichere Fall in dieser Richtung.

Für die ganze Besprechung der Frage der Impfschäden erscheint es mir von allergrößter Wichtigkeit, die Symptome der Erkrankungen an den angeführten Fällen selbst einmal genauer zu besprechen.

Wir wissen, daß die Krankheitserscheinungen bei natürlicher Lyssainfektion sowohl die Formen der echten rasenden Wut oder aber jene der stillen paralytischen Wut annehmen können, daß es sogar Fälle von abortiver oder latenter Lyssa gibt, bei denen die Krankheitssymptome über rein psychische Alterationen nicht hinausgehen. Es gibt ferner Fälle von Wut, bei denen sich das Virus unheimlich lange Zeit im Körper des Gebissenen völlig latent aufhalten kann, bis vielleicht irgendeine Gelegenheitsursache den Ausbruch der Erkrankung plötzlich auslöst. Einen in dieser Richtung ganz besonders interessanten Fall, der mich beschäftigte, und der zeigt, wie lange Zeit sich das

Virus latent erhalten kann, möchte ich hier einschaltend wiedergeben. In einer Stadt Siebenbürgens wurden im Jahre 1923 5 Personen von einem tollen Hund gebissen, darunter die Tochter und der Kutscher eines vielbeschäftigten Arztes. Bei allen Personen wurde 3 Tage nach den Bißverletzungen mit der Impfung begonnen und diese auch ohne Zwischenfall zu Ende geführt. Plötzlich in einer Nacht, und zwar im 17. Monate nach dem Biß, erkrankte jener Kutscher unter den typischen Anzeichen echter Tollwut, und starb unter den klassischen Symptomen akuter Tollwutsinfektion. Es dürfte dies wohl ein sehr seltener Fall langer Inkubation sein, um so interessanter als es sich dabei um eine schutzgeimpfte Person handelt.

Die Unterschiede in den Krankheitssymptomen der beiden häufigsten Formen der menschlichen Lyssa, der sogenannten rasenden und der stillen Wut, sind nur dort scharf gezeichnet, wo es sich um die beiden Extreme handelt. Das Charakteristische für die rasende Wut sind das ausgesprochene Erregungsstadium, die gesteigerte Reflexerregbarkeit, die Schling- und Muskelkrämpfe, die ausgesprochene Hydro- bzw. Photophobie, bis schließlich auch hier die Lähmungen einsetzen und die Krankheit beenden. Gegenüber dieser, auch als konvulsive Form bezeichneten Art der Erkrankung schwinden bei der sogenannten paralytischen Form die anfänglich ebenfalls vorhandenen Erregungszustände früher, es treten Lähmungserscheinungen und Gefühllosigkeit, sogar Erlöschen der Reflexe in den Vordergrund der Symptome. Eine ausgesprochene Hydrophobie fehlt meist, obgleich Atmungs- und Schlingstörungen mehr oder weniger ausgesprochen vorhanden sind.

Zwischen beiden Formen gibt es aber alle Übergänge. Wenn wir nun weiterhin versuchen, in den eingangs angeführten Fällen die Krankengeschichten zu analysieren, dann finden wir in einigen von den von van den Hoven wiedergegebenen Fällen Angaben, die auffallend an Krankheitsbilder der Wuterkrankung und nicht an postvakzinale Lähmungen erinnern.

Dafür sprechen die Krankengeschichten des von dem angeblich sicher nicht wutverdächtigen Affen gebissenen Knaben, der zuerst Krämpfe bekam und unter „cri cerebrale" zusammenstürzte, nachdem er auffallend herumgelaufen war, jener Soldat, bei dessen Erkrankung motorische Unruhe, Aufregungszustände, wie Stöhnen und Schreien, im Vordergrunde stehen. Allerdings ist dieser Mann von einem sicher wutkranken Hund gebissen worden und das im Zentralnervensystem vorhandene Virus fixe, das rascher im Tierversuche entscheidet als Straßenwut, könnte das Vorhandensein dieses letzteren der Erkenntnis entzogen haben. Es wurden auch keine Negri-Körperchen gefunden. Von unseren Fällen ist in dieser Beziehung besonders der 3. Fall hervorzuheben, wo ein 15jähriges Mädchen, bei welchem jeder Wutverdacht mit Sicherheit auszuschließen ist, 3 Wochen nach durchgeführter Schutzimpfung an Erscheinungen erkrankte, die klinisch sich vorwiegend als hohes Fieber, Opisthotonus und schwerste Krämpfe der Extremitäten äußerten; Pat. stöhnt und schreit, die Krämpfe dauern an. Bewegungen oder Berührungen der Pat. lösen einen tonischen Krampf aus, ebenso Geräusche. Der Sektionsbefund, auf Polyomyelitis acuta anterior lautend, stimmt als solcher überein mit jenen Veränderungen, die wir auch bei postvakzinalen Impfungen. manchmal aber auch bei Lyssa sehen, und die klinisch beobachteten Krankheitserscheinungen sind für Polyomyelitis doch etwas

ungewöhnliche, sie könnten zumindest ebensogut als Symptome einer Wuterkrankung angesehen werden. Die Uebertragung war positiv; die Veränderungen im Zentralnervensystem stark ausgesprochene.

Die übrigen, von uns angeführten Erkrankungen, bei denen eine positive Uebertragung gelang, tragen allerdings ausgesprochensten Charakter postvakzinaler Lähmung.

Wenn wir uns überdies die zahlreichen Krankengeschichten ansehen, die über Impfschädenerkrankungen veröffentlicht wurden, besonders jene von Schweinburg aus unserem Institute, dann sehen wir, wie mir scheint, in diesen öfters wesentliche Verschiedenheiten der Krankheitssymptome, insbesondere in bezug auf Uebererregbarkeit oder Herabsetzung der Reflexe, des Fehlens oder Auftretens von Krämpfen usw. vorliegen.

Es gibt demnach unter den Erkrankungen, die wir als Impfschäden auffassen, auch solche, die in bezug auf die Symptomatologie gewissen Lyssabildern sehr ähnlich sind.

Aus den angeführten Fällen bleibt also die Tatsache bestehen, daß es gelingt, bei nach Lyssaschutzimpfung verstorbenen Personen das zur Impfung verwendete Virus fixe noch Wochen nach durchgeführter Impfung im Zentralnervensystem nachzuweisen, und zwar sowohl wenn nach dem Högyesschen Verfahren als auch seltener, wenn nach der Methode Pasteurs geimpft worden war. In unseren Fällen fanden sich dabei stets weitgehende charakteristische pathologische Veränderungen im Zentralnervensystem der Verstorbenen, auch dort, wo eine Wutinfektion sicher ausgeschlossen werden konnte. Das am Lebenden zum Ausdruck gekommene Krankheitsbild entspricht dabei keineswegs immer einem solchen der schlaffen Lähmungen; wir sehen auch Bilder mit ausgesprochenen Erregungsstadien der Kranken,. mit Hyperästhesien und andauernden Krämpfen. Lähmungen fehlen bei diesen Fällen ganz oder treten erst spät auf, ähnlich wie bei Wutinfektion. Das Fieber ist stets sehr hoch und andauernd.

Bei den 4 in unserem Institute beobachteten Fällen ist die Tatsache besonders auffallend, daß der Ausbruch der Erkrankung bei dem nach Pasteur geimpften Fall 18 Tage, bei den 3 nach Högyes geimpften Fällen 20—23 Tage nach Beendigung der Impfung einsetzte, also ein für postvakzinale Impfungen gewiß später Termin.

Es ist ferner durch die Uebertragungsversuche sicher gestellt, daß das im Zentralnervensystem der Verstorbenen als lebend nachgewiesene Virus ein solches vom Typus Virus fixe war, wie es zur Impfung verwendet wurde.

Alle diese Tatsachen scheinen mir nun doch für die ganze Auffassung der Frage nach der Aetiologie der postvakzinalen Lähmungen resp. der postvakzinalen Impfschäden überhaupt von wesentlicher Bedeutung und einer neuerlichen Diskussion wert zu sein, um so mehr als es vielleicht das erste Mal gelungen ist, auch in einem Falle, der nach Pasteur geimpft worden war, die Anwesenheit des Virus fixe im Zentralnervensystem der Geimpften durch positive Uebertragung nachzuweisen. Denn gerade der Umstand, daß es bisher nicht oder nicht in absolut einwandfreier Weise gelang, diesen Nachweis zu erbringen, führte zur Ansicht, daß das Virus fixe

nicht in ursächlicher Beziehung zu den postvakzinalen Lähmungen stehen könne.

Ich möchte zunächst an Hand unserer Fälle die verschiedenen Theorien über das Zustandekommen der Lähmungen betrachten.

Im Vordergrunde steht die Auffassung Kochs und anderer, nach welcher die Lähmungen ein modifiziertes Krankheitsbild der Wutinfektion darstellen, hervorgerufen durch abgeschwächtes Straßenwutvirus. Sie ziehen vor allem als Beweis die so häufig beobachteten Lähmungen der Versuchstiere bei Virus fixe-Infektionen zum Vergleiche heran, die selbst bei gleichartiger Infektion mit demselben Virus neben typischen Wuterkrankungen bei einzelnen Tieren in Erscheinung treten. Auch Koch verweist darauf, daß bei einzelnen Myelitisfällen neben dem typischen Bilde sich doch einzelne Lyssa-Symptome, wie Tobsucht, Krämpfe und Speichelfluß, vorfinden, nicht zuletzt erscheint Koch auch die Uebereinstimmung des histo-pathologischen Befundes, wie er beim lyssagelähmten Versuchstiere und bei den an Myelitis verstorbenen Menschen im Zentralnervensystem erhoben wird, von wesentlicher Bedeutung für seine Auffassung zu sein. Koch konnte ferner in einem Falle, wo der Pat. an Myelitis schwer erkrankt, aber nach Abheilung der Lähmungen später doch interkurrent an Sepsis gestorben war, im Zentralnervensystem ein Lyssavirus nachweisen, das bei Uebertragungen die Versuchstiere unter dem Bilde „konsumptiver Wut" tötete. Koch verweist ferner darauf, daß sich oft schon wenige Tage nach der Infektion histologische Veränderungen im Lendenmarke finden, ohne daß dasselbe schon infektiös wäre. Es wäre nun nach Koch möglich, daß die Vermehrung eines abgeschwächten Erregers an dieser Stelle Paraplegien auslösen, ohne daß es in weiterer Folge zur Ausbildung von Lyssa kommen könne, weil infolge von mittlerweile eingetretener Ausbildung von Immunstoffen die höher gelegenen nervösen Zentren gegen das Lyssagift geschützt seien. Koch und Jochmann nehmen auf Grund eines von Franca beschriebenen positiven Uebertragungsversuches eines Pasteur geimpften Falles, der von sicher gesundem Hunde gebissen war, an, daß auch Virus fixe gelegentlich die Ursache der Paraplegien sein könne. Koch und Jochmann sind also die Hauptvertreter für die Annahme einer infektiösen Ursache der Paraplegien, bedingt durch Lyssavirus.

Diese Auffassung hat zahlreichen Widerspruch von seiten verschiedenster Autoren ausgelöst. Vor allem hat man Koch vorgehalten, daß es bei natürlicher Infektion niemals zur Ausheilung einer einmal ausgebrochenen Erkrankung komme, wie dies bei Paraplegien doch häufig der Fall sei, und daß dieses Krankheitsbild nur nach künstlicher Infektion beobachtet werde. Bezüglich der Krankheitssymptome fehlten bei postvakzinalen Lähmungen doch stets die prägnanten Lyssasymptome, wie Hydrophobie, Reflexübererregbarkeit, Auslösbarkeit der Krämpfe durch Lichtwirkung und Geräusche. Was aber die Uebertragungsversuche betrifft, so weist besonders Schweinburg auf die Fälle von Paltauf hin, wo die Uebertragung von Straßenwutvirus aus dem Gehirn interkurrent Verstorbener auch dort gelungen sei, wo niemals Symptome von Lyssa oder Lähmungen in Erscheinung getreten waren. Der positive Uebertragungsversuch beweise demnach nur die Anwesenheit von Lyssavirus im Zentralnervensystem, aber nicht eine ätiologische Ursache desselben für die Lähmungen. In dem Uebertragungsversuche Kochs sei es überdies nur zu dem Bilde der konsumptiven Lyssa ge-

kommen, deren Aetiologie um so weniger geklärt wäre, als ähnliche Krankheitsbilder auch durch keimfreie Filtrate (Babes), durch Virus fixe-Emulsionen, die durch Erhitzen abgetötet waren, und schließlich durch wiederholte Injektionen von normaler Nervensubstanz (Marie) erzeugt werden konnten. Daher sei die Beweiskraft des von Koch angeführten positiven Uebertragungsversuches sehr geschmälert. Auch konnte Koch bei seinen Uebertragungsversuchen trotz zahlreicher Passagen keine kürzere Inkubationszeit für die Haftung seines Virus erzielen, was sonst bei jedem Straßenvirus im Kaninchenversuch gelingt. Vorwiegend aber hält man Koch entgegen, daß es nur in den allerseltensten Fällen gelingt, bei Myelitis positive Uebertragungen zu erzielen, daß die negativen vielmehr bei weitem überwiegen. Dieser Uebertragungsversuch müßte aber bei schweren akuten Lähmungen ohne weiteres gelingen, wenn das Lyssavirus die Ursache derselben wäre. Schweinburg sieht auch darin einen Widerspruch zur Auffassung Kochs, daß die durchschnittliche Inkubation der Myelitiden vom Tage des Bisses gerechnet kürzer als jene der Lyssainfektion sei. Denn wenn die Myelitis eine abgeschwächte Lyssa wäre, müßte die Inkubation eine beträchtlich verlängerte sein, denn nur als abgeschwächte Infektion seien jene Fälle von Wuterkrankung mit 100tägiger Inkubation und darüber zu erklären. Die Inkubation der Lähmungen hängt aber offensichtlich nicht vom Tage des Bisses, sondern von jenem des Impfbeginnes ab. Auch könne man nicht gut eine Erkrankung, die unter Umständen innerhalb weniger Tage, wie die Myelitis, zum Tode führe, als Ausdruck einer abgeschwächten Infektion ansehen. Ferner hat schon Babes gegenüber Koch die Tatsache angeführt, daß bei gebissenen, aber nicht schutzgeimpften Personen Myelitis niemals beobachtet werde, dagegen aber sogar bei solchen Schutzgeimpften, die überhaupt nicht oder nur von gesunden Tieren gebissen worden waren.

Die Lähmungen können also nicht mit dem Bisse, sondern nur mit der Schutzimpfung in Zusammenhang stehen, seien also als Impfschäden aufzufassen.

Als Impfschaden kommt aber zunächst das Virus fixe in Betracht, und eine ganze Reihe von Autoren, wie Franka, Fermi, Papamarku etc. und in letzter Zeit van den Hoven, neigen der Ansicht zu, daß das Virus fixe in ursächlicher Beziehung zu den Lähmungen stehe[1]). Schweinburg tritt dieser Auffassung entgegen. Er verweist vor allen Dingen und gestützt auf die Ansichten Pasteurs, Pfeiffers, Kochs und Babes darauf, daß das Virus fixe für den Menschen subkutan injiziert überhaupt apathogen sei, und führt zur Unterstützung seiner Behauptung das große statistische Material von Ferran und insbesondere die Impfresultate nach der Methode von Högyes an, wo stets mit frischem Virus fixe geimpft wird. Auch sei die ganze Theorie der Lyssaimmunität darauf aufgebaut, daß das Virus fixe für den Menschen apathogen bereits im lokalen Gewebe unter Freiwerden von Endotoxinen zerstört werde. Schweinburg bespricht ausführlich 5 von Barregi angeführte Fälle, die tödlich verliefen und bei denen Virus fixe im Zentralnervensystem durch positive Uebertragung nachgewiesen wurden; er lehnt aber die Beweiskraft dieser Fälle ab und sagt, „daß sie nicht imstande sind, die durch zahlreiche Versuche

1) Während der Korrektur dieser Abhandlung ist eine höchst interessante Arbeit von Boecker in der Zeitschr. f. Hygiene erschienen, die leider in dieser Diskussion nicht mehr berücksichtigt werden konnte.

am Menschen erhärtete Ansicht von der Unschädlichkeit des Virus fixe bei subkutaner Injektion im allgemeinen zu erschüttern".

Aber diejenigen Autoren, welche im Virus fixe selbst die ursächliche Schädigung erblicken, verweisen darauf, daß die Myelitis um so häufiger auftrete, je intensiver geimpft werde, und auch van den Hoven sucht den Nachweis der Abhängigkeit der Myelitis von der Menge des überimpften Virus fixe zu erbringen. Auch spreche die Inkubation der Lähmungen für Passagewut. Schweinburg diskutiert in seiner Arbeit alle diese Argumente eingehend und kommt zu der Schlußfolgerung, daß die Tatsache des Zunehmens der Myelitiden mit der Intensität der Impfung, die Abhängigkeit des Ausbruches der Lähmungen vom Zeitpunkte des Impfbeginnes zwar richtig, aber auf eine andere ursächliche Wirkung als auf das Virus fixe zurückzuführen sei. Gelungene Uebertragungsversuche nach Myelitiden seien eben lediglich für eine Anwesenheit des Virus fixe im Zentralnervensystem, aber nicht auch für eine ätiologische Bedeutung desselben für die Erkrankung selbst beweisend. Insbesondere spricht die oft beobachtete kurze Inkubation (5 Tage) der Lähmungen sowohl gegen eine Infektion mit dem stark abgeschwächten Virus fixe, das zur Immunisierung verwendet war, als auch gegen eine solche mit abgeschwächtem Straßenvirus. Wesentlich und von besonderer Bedeutung sei die Tatsache, daß Lähmungen besonders häufig dort beobachtet werden, wo die Immunisierung mit erhitztem Virus fixe durchgeführt werde, wo also überhaupt kein lebendes Virus überimpft werde. Schweinburg hatte damals noch keine Kenntnis von den erst später bei unseren Impfungen in Erscheinung getretenen und vorstehend angeführten Fällen; wir hatten auch seit Einführung der Impfmethode nach Högyes durch fast 2 Jahre hindurch keinen einzigen Impfschaden, also Myelitiden zu verzeichnen, und die Impferfolge waren glänzende[1]).

Die vorangestellten Fälle, die mittlerweile zur Beobachtung kamen, scheinen mir aber doch geeignet, unsere Auffassung über das Wesen der ursächlichen Beziehung der Lyssaschutzimpfung zu den Myelitiden eindeutiger aufzuklären, als dies bisher ohne ihre Kenntnis geschehen konnte, und vielleicht doch auf einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Virus fixe und einer durch dieses verursachten Erkrankung hinzuweisen. Das bedeutendste Hindernis für diese Auffassung war bisher wohl und vor allen Dingen der Umstand, daß es verhältnismäßig selten gelang, das Virus durch positive Uebertragung im Zentralnervensystem der Myelitiserkrankten nachzuweisen, und daß man nur gar zu leicht geneigt war, aus dem eigentümlich gleichartigen Verhalten des Virus fixe im Tierversuche, insbesondere im Kaninchenorganismus, weitergehende Schlüsse zu ziehen.

Eine der allerwichtigsten Fragen zur Aufklärung erschien mir, wie erwähnt, zunächst einmal diejenige, ob wir berechtigt sind, das klinische Bild der paralytischen Lähmungen, wie sie uns bei postvakzinaler Myelitis entgegentreten, mit der Lyssaerkrankung in Beziehung zu bringen, oder ob beide Erkrankungen von Grund auf so verschieden sind, daß man keine gemeinsame Aetiologie annehmen darf. Ich möchte nun in dieser Richtung einen Schritt weitergehen und sehen, was uns in dieser Beziehung die Beobachtung der Tiere lehrt. Ich lege

1) Diese Angabe bedarf einer Richtigstellung insofern, als der zweite von mir angeführte Fall (Julie H.) sich zu Beginn der Einführung der Högyes-Impfung an unserem Institute ereignete.

dieser Betrachtung bei Besprechung von Tierversuchen die Begriffe „stille“ oder „rasende“ Wut in dem Sinne zugrunde, daß im ersteren Falle ausgesprochene Paraplegien analog der Impflyssa von Anbeginn vorherrschen, die in letzterem Falle erst später eintreten.

Wie verschieden sich nun die Infektion mit Lyssavirus bei Uebertragungen in bezug auf die Krankheitssymptome äußern kann, darüber gibt mir unser altes Protokollbuch, das noch unter Paltauf geführt wurde, interessante Aufschlüsse. Ich will einige Beispiele anführen:

1907. Ein von einem unbekannten Hunde gebissener und nur ein einziges Mal geimpfter Mann stirbt interkurrent an Delirium tremens. Bei Verimpfung des Gehirnes erkrankten die Tiere in 5 hintereinander folgenden Passagen jeweils am 42. bis 53. Tage unter Zittern des Kopfes, mangelnder Freßlust, Lähmungen der Hinterhand Streckkrämpfen und Dyspnoe. In der VI. Passage erkrankt das mit Hirn subdural geimpfte Kaninchen am 79. Tage unter Ausfall der Haare und Lähmung der Hinterhand, und dasselbe Krankheitsbild ließ sich sogar auf subkutanem Wege übertragen. Ein Kaninchen dieser leider im weiteren Verlaufe nicht mehr mit genauen Datierungen versehenen Passage-Reihe erkrankte aber doch an typischer Lyssa, was ausdrücklich angeführt wird und wichtig ist, weil es die Erkrankung verifiziert.

Es liegt also eine eigentümliche Erkrankung der Versuchstiere vor, die erst durch eine typische eingestreute Wuterkrankung eines Tieres und die mehrfach gelungene Uebertragung als Abart der Wut erkannt wird. Im vorliegenden Falle war sicher Wutvirus im Zentralnervensystem vorhanden, ohne daß der Pat. Myelitis oder Wuterscheinungen gezeigt hätte. Wäre die Impfung zu Ende geführt worden, so würden wir annehmen, daß es sich im Sinne Paltaufs um eine Abschwächung des Straßenvirus durch die Impfung handeln würde, was aber im vorliegenden Falle nicht möglich ist. Wenn wir aber annehmen dürften, daß sich das Virus zu dieser Zeit möglicherweise erst in einem Entwicklungsstadium befunden hat, wo es noch nicht für die Uebertragung voll virulent war, ferner daß das Delirium tremens vielleicht hervorgerufen wurde durch die ersten störenden Einflüsse des sich entwickelnden Virus — der Biß erfolgte 3 Wochen vor dem Tode des Patienten —, wenn wir ferner die sich uns darbietenden Krankheitserscheinungen der Versuchstiere einer Abart der Lyssaerkrankung zurechnen dürfen, dann könnte dies vielleicht unsere ganze Auffassung über die konsumptive Wut, über die Formen der Wuterkrankung überhaupt ändern, weil hier eine Abschwächung des Straßenvirus infolge durchgeführter Schutzimpfung überhaupt nicht in Frage kommt, und wir könnten annehmen, daß das Straßenvirus zu einer bestimmten Zeitperiode seiner Ausbreitung und Entwicklung im Organismus andere Krankheitsbilder bei der Uebertragung hervorrufen kann, als dann, wenn es seine Entwicklung bereits beendet und typische Wut hervorgerufen hat, wahrscheinlich und besonders dadurch, weil derartig nicht völlig ausgereiftes Virus bei Uebertragung in einen gesunden Organismus dortselbst eine starke Abschwächung seiner Virulenz erfährt.

Ein anderer Fall: Franz P., gebissen 2. 7. 1907, erkrankt 3. 9., gestorben 5. 9. Histologisch negativ. Das subdural geimpfte Kaninchen erkrankt an typischer Lyssa nach 76 Tagen, das subkutane erkrankt nach 53 Tagen an Lähmungen der Hinterhand, frißt nicht und magert ab, dann Lähmungen der Vorderhand und stirbt erst nach 20 Tagen ohne ein ausgeprägtes Lyssasymptom. Ein von diesem Tiere verimpftes Lendenmark erzeugt bei subkutaner Impfung typische Lyssa bei dem neuen Versuchstier nach einer Inkubation von 118 Tagen, wogegen das mit Lendenmark subdural geimpfte Kaninchen nach 39 Tagen nur an Lähmungen erkrankt, die nach 4 Tagen zum Tode führen.

Weiterhin wurden von einer nichtgeimpften, an Wut am 28. 8. 1918 verstorbenen Frau Marie P. Uebertragungsversuche vorgenommen. Das subdural geimpfte Kaninchen starb am 15. Tage an typischer Wut. Das subkutan geimpfte erkrankte nach 13 Tagen an stiller Wut, erholte sich nach 4tägiger Erkrankung, um 10 Tage später neuerlich zu erkranken. Diese zweite Attacke der stillen Wut dauerte 10 Tage an, obwohl es sich um direkte Uebertragung vom wutkranken Menschen handelte.

Wir sehen also beim Versuchstiere auch bei direkter Uebertragung von an Lyssa Verstorbenen, und zwar bei duraler wie bei subkutaner In-

jektion die verschiedensten Krankheitsbilder in allen Uebergängen von der rasenden Wut zu ausgesprochenen Lähmungen, bis zu jenen die Erkrankung verschleiernden Bildern auftreten, die eine Lyssaerkrankung gar nicht vermuten ließen, wenn nicht eingesprengte typische Erkrankungen und Passagemöglichkeit aufklären würde, daß Lyssainfektion vorliegt. Dies tritt bei Erstübertragung schon in Erscheinung.

Aber auch merkwürdigen Sprüngen von einer Erkrankungsform in die andere begegnet man, die ebenfalls wieder eher in einer Eigenart der Entwicklung oder der Lokalisation des Virus selbst oder seiner Lebensäußerungen zu suchen sein dürften, als in der Individualität der Versuchstiere. Unser Protokoll enthält zahlreiche, lang fortgesetzte Versuchsreihen über Kaninchen- und Meerschweinchenpassagen, worin man einerseits das Krankheitsbild der stillen, andererseits das der rasenden Wut oft ganz willkürlich in den Passagen abwechseln sieht. Daß dies aber auch serienweise geschehen kann, zeigt folgendes Beispiel:

Uebertragung aus einem Negri-positiven Hirn B.T., trotz Impfung an Wut am 28. 10. 1909 gestorben. 1.—14. Passage, rasende Wut, 15.—19. stille Wut, 20.—39. rasende Wut, 40. stille Wut, 41.—48. rasende Wut, 49.—52. fragliche Wut, Streckkrämpfe, zum Teil atypische Lähmungen.

Auch bezüglich der Ausbreitung des Lyssavirus im Organismus besteht gewiß keine Gleichmäßigkeit. Wir finden Virus im Lendenmark, im Lumbalpunktate, in der Ventrikelflüssigeit, in den Nebennieren, ja selbst in der Hautnarbe der Bißstelle, ohne daß sich dabei irgendeine Regelmäßigkeit nachweisen ließe, wie etwa in Medulla oder Amonshorn usw. Ich führe diesbezüglich einige Fälle an[1]:

1. Fall St. 1912.
Uebertragung (wahrscheinlich Medulla, nicht vermerkt).
1. 12. geimpft
a) subdural, 25. 12. Lyssa.
b) „ 25 12. „
c) subkutan, 16. 4. Lähmungen der Hinterhand, 20 Tage krank, † 6. 5.
Davon subdural Kaninchen nach 4 Tagen Lähmungen,
„ Meerschweinchen subkutan, rasende Wut nach 14 Tagen.
Spinalflüssigkeit:
Subdural verimpft 1. 12.
a) am 24. 12. Streckkrämpfe, Dyspnoë, Lähmungen der Hinterhand, † 1. 2.
davon b) fragliche Lyssa 17. 3.
c) „ „ 7. 4.
d) Lähmung der Hinterhand, Streckkrämpfe, 18. 5.
e) typische Lyssa, 14. 7.

2. Fall, Josef S., geimpft, an Wut gestorben 13. 4. 1913.
14. 4. Uebertragung von
1. Ventrikelflüssigkeit subdural, 16. 6. Ausfall der Haare, abgemagert, 21. 6. Lyssa (62 Tage).
2. Cerebrospinalflüssigkeit subdural, 28. 5. Ausfall der Haare, abgemagert, 10. 6. Lyssa (57 Tage).
3. Medulla subdural, 1. 6. krank, 10. 6. † Lyssa (57 Tage).
4. Nebenniere subdural a) Lyssa 23. 4. (9 Tage),
b) „ 25. 5. (41 „).

3. Fall, Elfriede B., gebissen 20. 8. 1913, am 3., 4. und 5. 9. geimpft, erkrankt am 6. 9. an Angina phlegmonosa, stirbt 13. 9. interkurrent.

---

1) Es wäre nach alledem möglich anzunehmen, daß das Virus in verschiedenen Partien des Zentralnervensystems nicht überall das gleiche Entwicklungsstadium erreicht hat. Nur das voll ausgereifte Virus erzeugt vielleicht typische Krankheitsbilder, wogegen die Verimpfung von Gewebsteilen, in denen sich unvollkommen entwickeltes, nicht völlig ausgereiftes Virus vorfindet, bei der Uebertragung zufolge von Abschwächung andere Krankheitsbilder hervorruft (konsumptive Formen?).

Exzidierte Hautnarbe des Oberschenkels (24 Tage nach dem Biß) am 14. 9. einem Meerschweinchen subkutan verimpft. 27. 9. typische Lyssa.

Jene Tiere, die mit Ammonshorn, Medulla und Kleinhirn injiziert werden, erkranken, resp. sterben unter Abmagern, Lähmungen etc., aber keineswegs an typischer Lyssa [1]).

Diese zumeist bei Erstübertragungen direkt von Lyssa infizierten Menschen und noch dazu häufig bei subkutaner Einverleibung des Virus beobachteten Krankheitsbilder, die so sehr verschieden vom typischen Bilde der rasenden oder stillen Wut beim Versuchstiere auftreten, sind doch gewiß auffallend, um so mehr als sie von geimpften wie nichtgeimpften Personen erzielt werden können.

In jenen Fällen, wo es bei den Verstorbenen noch gar nicht zum Ausbruche der Lyssa gekommen war (interkurrent Delirium, Sepsis), könnte man ohne weiteres an die Uebertragung einer noch nicht völlig entwickelten Zwischenform des Erregers, ebenso vielleicht bei manchen Negri-negativen Fällen denken. Aehnliches könnte man annehmen, wo solche Krankheitsbilder nach Ueberimpfung von Lumbal- oder Ventrikelflüssigkeit aufgetreten waren. Aber all diese Annahmen reichen nicht zur vollen Erklärung aus, ebenso wie wir nichts darüber wissen, wieso eine Passageserie desselben Virus rasende, die andere stille Wut oder ganz eigene Krankheitsbilder erzeugt, warum wir einmal Negri-Körperchen bei ausgesprochener Wut finden, ein andermal nicht. Wir wissen nichts darüber, warum einmal das Lyssavirus fast überall im Organismus, ein andermal nur in bestimmten Anteilen desselben nachweisbar ist. Aber solange wir dies nicht erweisen können, darf man wohl den Hauptgrund hierfür in Eigentümlichkeiten und Verschiedenheiten des Virus selbst und seiner Entwicklung suchen, in der Verschiedengestaltigkeit jeweiliger Lebensäußerungen, wie wir sie im Vorstehenden für das Straßenvirus darzulegen versuchten. Daß es solche Verschiedenheiten bei dem im Organismus bereits sich ausbreitenden Virus selbst tatsächlich gibt, erscheint mir nach dem Vorausgesagten ziemlich sicher. Wie könnten wir uns sonst jenen eigentümlichen Fall erklären, wo die Uebertragung nach interkurrentem Todesfall aus der Bißstelle im Versuchstiere echte Wut erzeugt, jene aus den typischen Prädilektionsstellen der Wuthaftung nur Lähmungen oder unbestimmte Krankheitssymptome mit unklarer Todesursache, die sich aber fortimpfen lassen. Wie konnte jener schutzgeimpfte Kutscher nach 500tägiger Inkubation trotz durchgeführter Schutzimpfung akut an rasender Wut erkrankten, wenn nicht ganz besondere Eigentümlichkeiten in der Entwicklung und Haftung dieses Virusstammes vorhanden gewesen wären?

Und damit kehren wir zu einer unserer eingangs gestellten Fragen, zum Krankheitsbild der Myelitis und zum Virus fixe zurück.

Es erübrigt sich, hier auf das Charakteristische des Virus fixe, wodurch es sich vom Straßenvirus unterscheidet, näher einzugehen. Ich möchte nur bemerken, daß ich unser Virus, sofort als sich der erste Myelitisfall nach der Högyes-Impfmethode bei uns ereignete, prüfen ließ. Es war weder subkutan noch intramuskulär für Kaninchen pathogen, bei subduraler Infektion in Verdünnung über 1:500 nicht mehr infektiös und ebenso, wenn es 6tägig getrocknet war. Es hat sich also im Laufe der Jahre ziemlich konstant erhalten, nur hat sich die Inkubation für das Kaninchen bei subduraler Infektion im Laufe der Zeit

---

1) Vergl. Fußnote S. 93.

um einen Tag verkürzt, und hat es seine intramuskuläre Infektiosität verloren.

Ich habe eingangs schon jene Fälle, die den Anlaß zu dieser Abhandlung gebildet haben und bei denen wir das Virus fixe im Zentralnervensystem sowohl nach Pasteur- als nach Högyes-Impfung Verstorbener nachweisen konnten, eingehend geschildert. Da es sich hierbei teilweise auch um sicher nicht wutinfizierte Personen handelt, ist der absolut sichere Nachweis erbracht, daß Virus fixe nicht in allen Fällen schon am Orte seiner Einverleibung zerstört, daß dabei seine Gifte frei gemacht werden, und in der Folge dadurch die Ausbildung der Lyssaimmunität eingeleitet wird. Es ist vielmehr sicher, daß in gewissen Fällen das Lyssa-Virus fixe in das Zentralnervensystem gelangt, sich dort in einzelnen Teilen, und zwar verschieden stark (Quast) vermehren kann. Es bleibt also die Frage noch offen, ob es dortselbst pathogene Wirkung zu entfalten vermag, und dafür scheint mir vor allem die Tatsache zu sprechen, daß das Virus unter Umständen allen Einwirkungen des Organismus im Unterhautzellgewebe widersteht und von dort aus nach scheinbarer Inkubation ins Nervengewebe eindringend, sich dort vermehren kann. Ob dies nur in gewissen Fällen und unter welchen Bedingungen dies geschieht, darüber wissen wir ebensowenig, wie über das Wechselspiel des Auftretens der Krankheitsbilder der rasenden oder stillen Wut nach ein- und derselben Virusinfektion.

Daß wir Virus fixe, wenn es vorher getrocknet worden ist, seltener im Zentralnervensystem der geimpften Personen nachweisen können, wie bei der Högyes-Impfmethode, könnte wohl darauf beruhen, daß dieses Virus durch die Trocknung eine Veränderung erleidet, die es von letzterem unterscheidet. Möglicherweise werden die Verhältnisse dahin verschoben, daß gewises Vira zwar weniger Tendenz zur allgemeinen Vermehrung im Nervensystem zeigen, dagegen ein verstärktes Vermögen, von einem bestimmten Herde aus neurotrope Gifte, und so Fernwirkungen zu produzieren, deren vorwiegende und ausschließliche Schädigung wir in den histo-pathologischen Veränderungen mancher Lyssaerkrankungen, vielleicht gerade bei gewissen Formen der Paraplegien und Lähmungen, möglicherweise auch der Myelitiden vor uns haben. In solchen Fällen würde natürlich der Uebertragungsversuch vielfach negativ sein können, im Gegensatz zu jenen Erkrankungen, wo das Virus vorwiegend im Nervensystem zu allgemeiner Entwicklung kommt. Es wäre auch möglich, daß die produzierten Gifte, und an solche müssen wir doch auf Grund der sichtbaren Veränderungen im Rückenmarke (Neurophagie, Zellinfiltrate) und der klinischen Erscheinungen glauben, verschiedenartig sein könnten, etwa in Analogie des Diphtherietoxins und Diphtherietoxons.

Der Nachweis von Virus fixe nach durchgeführter Impfung mit Trockenmark scheint übrigens doch häufiger zu gelingen, als dies in der Literatur angegeben wurde; allerdings nicht nur unter Berücksichtigung der postvakzinalen Lähmungen, sondern wenn man auch die Uebertragungsergebnisse nach Wuterkrankung mit heranzieht. Außer unserem angeführten Falle mit positiver Uebertragung finde ich diesbezüglich wiederum in unserem alten Protokolle Aufzeichnungen, aus denen ich Nachfolgendes wiedergeben möchte.

Franz H., Arbeiter aus Pribram. Am 13. 1. 1917 von einem sicher wutkranken Hunde ins Gesicht gebissen. Impfbeginn 16. 1. 1917. 20mal mit Unter-

brechung geimpft. (Todestag und Krankengeschichte nicht angegeben; ersterer fällt wahrscheinlich laut Tierversuch etwa auf den 31. 3. oder 1. 4. 1917.)

Mit eingesandten Gehirnteilen wurden 3 Kaninchen am 4. 4. 1917 geimpft. 1) subdural am 10. 4. früh Lähmungen, abends †, 2) subdural am 11. 4. stille Wut, am 13. 4. †, histologisch negativ, 3) subkutan am 11. 4. stille Wut, am 13. 4. †.

Die Tiere erkranken demnach bei subduraler Impfung am 6.—7. Tag, ebenso bei subkutaner Impfung an stiller Wut und sterben nach 1—2 Tagen mit histologisch negativem Befunde. Da wir bei Ueberimpfung von Straßenvirus fast stets als kürzeste Inkubation 11—12 Tage nach subduraler sowohl als auch nach subkutaner Infektion sehen, so darf man wohl annehmen, daß es sich hier um eine positive Uebertragung des zur Impfung verwendeten Virus fixe handeln könnte[1]).

Karl B., 15 Jahre, Knecht aus Eichelberg, Bez. Pöggstall, Niederösterreich, wurde am 18. 1. von einem sicher wutkranken Hunde in den rechten Daumen gebissen und vom 26. 1. bis 8. 2. 1917 nach **Pasteur** geimpft. Am 7. 4. 1917 an Lyssa gestorben.

Mit eingesandten Teilen der Medulla oblongata und Cerebellum wurden am 10. 4. 1917 folgende Kaninchen geimpft:

I. Passage: subdural 1) am 14. 4. typ. Erschein. der stillen Wut, am 16. 4. † histologisch negativ
„ 2) am 15. 4. typ. Erschein. der stillen Wut, am 17. 4. † histologisch negativ
subkutan 3) stirbt am 17. 4. ohne deutliche Erscheinungen.

II. Passage von Kaninchen Nr. 2 am 17. 4. 1917:
subdural 4) am 22. 4. erste unausgesproche Symptome, 28. 4. deutlich erkrankt, 30. 4. †
subkutan 5) am 22. 4. Schwäche, am 30. 4. †

III. Passage von Kaninchen Nr. 4 am 30. 4. 1917:
subdural 6) am 21. 5. stille Wut, am 22. 5. †
„ 7) „ 21. 5. „ „ „ 22. 5. †

IV. Passage von Kaninchen Nr. 6 am 30. 5. 1917:
subdural 8) am 5. 6. ohne Lyssa †
„ 9) „ 11. 6. „ „ †, Obduktionsbefund negativ.

Es ist bei diesen beiden Fällen auffallend, daß beide Personen, die an ganz verschiedenen Orten von ganz verschiedenen sicher wutkranken Hunden gebissen wurden, aber fast zur selben Zeit und mit demselben Virus geimpft worden waren, fast zur selben Zeit gestorben sind und im Zentralnervensystem ein Lyssavirus beherbergten, daß eine so auffallend kurze Inkubationszeit hatte, wie wir eine solche im allgemeinen nur bei Virus fixe zu sehen gewohnt sind[2]). Diese kurze Inkubation hält auch in der in letzterem Falle vorgenommenen zweiten Tierpassage an. Bei der 3. Passage tritt merkwürdigerweise eine verlängerte Inkubation von 21 Tagen auf, und in der 4. Passage verläuft sich die Erkrankung in eines jener schon früher besprochenen und öfters beobachteten merkwürdigen Krankheitsbilder, die ohne ausgesprochene Symptome zum Tode der Versuchstiere führen, ohne daß die Obduktion einen Aufschluß darüber geben würde. Die Inkubation betrug dabei 6—11 Tage[1]).

Wie soll man aber derartige Fälle richtig deuten? Wenn dieses Virus, das mit so kurzer Inkubation die Versuchstiere tötete, ein Straßenvirus war, dann müssen wir annehmen, daß es hochvirulent auch für

1) Es sind auch bei uns schon kürzere Inkubationen bei Uebertragungen von Straßenwut beobachtet worden (5—7 Tage), aber dann verhalten sich doch zumeist die Inkubationen für die einzelnen Versuchstiere verschieden und nicht so übereinstimmend wie in den angeführten beiden Fällen.

2) Diese beiden Fälle fallen in bezug auf die Impfung zeitlich genau mit einem tödlich verlaufenen Myelitisfall des Jahres 1917 zusammen, wie nachstehend angeführt wird, und was für die ganze Auffassung um so wesentlicher ist, weil der eine der beiden Fälle aus Niederösterreich, der zweite aus Böhmen, der Myelitisfall aus Wien stammte, und alle drei von sicher wutkranken Hunden gebissen, zu gleicher Zeit und mit gleichem Impfstoff behandelt waren.

Kaninchen war, und dann ist der weitere Verlauf bei den nachfolgenden Passagen nicht recht verständlich. Das gleiche gilt aber auch bei der Annahme einer ausschließlichen Virus fixe-Infektion.

Es wäre immerhin möglich, daß in beiden Fällen die an Wut verstorbenen Personen Straßenvirus und Virus fixe im Nervensystem beherbergten und möglicherweise auch an den Folgen der Doppelwirkung gestorben sind. Beide Vira wurden bei der 1. Passage überimpft, und das Virus fixe hat mit der kürzeren Inkubation für das Kaninchen das Straßenvirus zunächst überdeckt. Vielleicht kommt im weiteren Verlauf der Infektion und der Entwicklung der Vira zufolge stärkerer Vermehrungsintensität ein Dominieren eines an sich doch abgeschwächten Straßenwutvirus zum Vorschein, das ein mehr oder weniger starkes Zurückdrängen der Entwicklung des Virus fixe zur Folge hat, wodurch in der 2. Passage wohl noch die kurze Inkubation vorherrscht, bei der übernächsten Uebertragung aber schon das stärker vermehrte Straßenvirus zum Durchschlag kommt. Zuerst wirkten vielleicht im Kaninchen die Gifte des Virus fixe mit, trotzdem bei dieser Uebertragung vorwiegend Straßenvirus in einem vielleicht noch nicht vollkommen zur Ausreifung gekommenen Stadium überimpft wurde. Es wäre ja möglich, daß das Virus fixe nur in bezug auf Giftproduktion das stärkere ist, in der Entwicklungsintensität aber hinter dem Straßenvirus zurücksteht, das schließlich überwiegt, und in einem Zwischenstadium der Entwicklung überimpft, einer Abschwächung unterliegend, die eigenartigen Krankheitsbilder mit verwaschenen unausgeprägten Symptomen erzeugt. Wahrscheinlich lagen schon im Verstorbenen ähnliche Verhältnisse vor, so daß das Straßenvirus nicht zu voller Entwicklung kam.

Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß diese Erklärung etwas gezwungenes an sich hat, aber wir sahen schon wiederholt, so bei Uebertragung von Zerebrospinalflüssigkeit oder Hirnteilen interkurrent nach Wutinfektion Verstorbener, bei denen die Wuterkrankung noch nicht zum Ausbruche gekommen war, solche merkwürdige Krankheitsbilder bei den Uebertragungen zutage treten. Ueber den Entwicklungsgang des Lyssa-Virus wissen wir eigentlich gar nichts. Aber die Tatsachen, daß wir einmal mit Hirnteilen einer an Lyssa verstorbenen Person Kaninchen mit Wut infizieren können, wogegen sich die Zerebrospinalflüssigkeit ebenfalls infektiös erweist, aber bei Uebertragung ganz andere Krankheitsbilder auslöst, als wir bei Gehirnübertragung erhalten, oder daß wir bei interkurrent Verstorbenen in der Bißwunde noch typisches Straßenvirus nachweisen, im Zentralnervensystem aber erst ein Virus, das an sich ebenfalls infektiös, nur zu abortiven Symptomen oder zu konsumptiver Lyssa führt, geben doch sicherlich zu denken[1]). Der Umstand, daß hierbei die Menge des überimpften Virus, die in einzelnen Teilen des Nervensystems verschieden sein kann, eine ausschließliche

1) Dazu kommt die Tatsache, daß wir gar nicht selten bei gebissenen und geimpften Verstorbenen bei Uebertragungsversuchen, die einzelnen Versuchstiere mit ganz verschiedener Inkubation und unter verschiedenen Symptomen sterben sehen, die durch die Menge des jeweils im Impfmaterial vorhandenen Erregers allein nicht erklärt werden kann. Auch die Annahme, daß das Virus unter dem Einflusse von antirabischen Schutzstoffen, die durch die Impfung entstanden sein könnten, nur in bestimmten Geweben eine besondere Abschwächung erfahren hätten, erscheint mir zur Erklärung völlig unzureichend.

Rolle spielen könne, ist nicht stichhaltig, weil dies nur in Verzögerung der Inkubation, aber nicht im Krankheitsbilde selbst zum Ausdruck kommen sollte.

Jedenfalls ergibt sich daraus die wichtige Lehre, daß man niemals ein bei Lyssaverdacht im Versuche gestandenes und überlebendes Kaninchen späterhin zur Bereitung von Impfstoff heranziehen darf wegen der Gefahr, ein Misch-Virus zu erhalten.

Es liegt auch möglicherweise die Ursache dieser Verschiedenheit im Krankheitsbilde der Versuchstiere in einer Variabilität des Virus fixe. Daß periodische Schwankungen im Charakter der Lyssa-Vira überhaupt, wenn wir von der Inkubation als solcher zunächst absehen, vorkommen können, das glaube ich schon durch die Wiedergabe jener Versuchsreihe des periodischen Wechsels der Krankheitsbilder der stillen oder rasenden Wut gezeigt zu haben. Vom Virus fixe wissen wir heute, daß es, obwohl allgemein für Hunde subkutan nicht infektiös, in einem oder anderen Falle aber doch infektiös werden kann[1]). Unsere eingangs angeführten Krankengeschichten von Personen, die niemals wutinfiziert waren, lassen wohl ähnliche Vermutungen auch für den Menschen zu[1]), nur mit der Einschränkung, daß das Bild der Krankheitssymptome im allgemeinen vielleicht zufolge der mehr toxischen Wirkung des Virus fixe mehr den Charakter der Lähmungen, der Vergiftung trägt, doch sehen wir, wie besprochen, auch andauernde Krämpfe usw. auftreten. Die Frage, ob das Virus fixe für den Menschen gelegentlich auch bei subkutaner Injektion pathogen werden kann, müssen wir entschieden noch offen lassen. Bemerkenswert ist in dieser Beziehung das oft ganz unerklärlich gehäufte Vorkommen von Lähmungen zu ganz bestimmten Zeiten. Wenn man die in unserem Institute beobachteten und von Schweinburg veröffentlichten Myelitisfälle nach dieser Richtung hin untersucht, ergibt sich nachstehende Gruppierung:

Es wurden folgende Fälle von Myelitiden beobachtet:

1915	2 Fälle, davon	1 aus der Impfzeit vom	27. 7.— 1. 8.}	gestorben
		1 " " " "	26. 7.— 8. 8.}	gestorben
1916	4 Fälle, "	1 " " " "	6. 2.—18. 2.	
		1 " " " "	15. 9.—28. 9.}	
		1 " " " "	5.10.—12.10.}	
		1 " " " "	ohne Datum?	
1917	1 Fall, "	1 " " " "	31. 1.—13. 2.	gestorben
	Es sind dies die oben angeführten Fälle mit jenem wahrscheinlichen Virus fixe-Nachweis, die ebenfalls im Januar desselben Jahres geimpft, mit fast gleicher Inkubation gestorben sind.		16. 1.— 6. 2.	gest. an Lyssa
			26. 1.— 8. 2.	" " "
1918	2 Fälle, davon	1 aus der Impfzeit vom	13. 5.—26. 5.	gestorben
		1 " " " "	24.11.— 7.12.	
1919	2 Fälle, "	1 " " " "	20. 5.—23. 6.}	
		1 " " " "	28. 5.—10. 6.}	
1920	3 Fälle. "	1 " " " "	16. 3.— 3. 4.	
		1 " " " "	28. 9.—11.10.}	
		1 " " " "	3.10.—16.10.}	

1) Dies ist einer der wichtigen Gründe, die mich veranlaßt haben, seinerzeit gegen den Versuch Stellung zu nehmen, in Oesterreich ohne zwingenden Grund die Schutzimpfung zu dezentralisieren und zugleich die allgemeine prophylaktische Hundeimpfung einzuführen (Wien. klin. Wochenschr. 1925).

1921	4 Fälle, davon	1	aus der Impfzeit vom	29. 5.—11. 6.	
		1	„ „ „ „	11. 9.—24. 9.	
		1	„ „ „ „	25. 9.— 8.10.	
		1	„ „ „ „	15.12.—28.12.	
1922	13 Fälle, „	1	„ „ „ „	23. 1.—26. 1.	
		1	„ „ „ „	24. 1.— 6. 2.	
		1	„ „ „ „	26. 1.— 8. 2.	
		1	„ „ „ „	31. 1.—13. 2.	
		1	„ „ „ „	3. 2.—12. 2.	
		1	„ „ „ „	6. 3.—19. 3.	
		1	„ „ „ „	10. 3.—23. 3.	
		1	„ „ „ „	19. 4.— 6. 5.	
		1	„ „ „ „	5. 6.—18. 6.	
		1	„ „ „ „	12. 9.—25. 9.	
		1	„ „ „ „	8.11.—21.11.	
		1	„ „ „ „	21.11.—10.12.	
		1	„ „ „ „	9.12.—22.12.	gestorben
1923	8 Fälle, „	1	„ „ „ „	18. 4.— 1. 5.	
		1	„ „ „ „	3. 5.—17. 5.	gestorben
		1	„ „ „ „	24. 5.— 6. 6.	
		1	„ „ „ „	30. 5.—12. 6.	gestorben
		1	„ „ „ „	13. 6.—26. 6.	
		1	„ „ „ „	14. 6.—27. 6.	gestorben
		1	„ „ „ „	21. 6.— 4. 7.	
		1	„ „ „ „	28. 6.—11. 7.	gestorben

Das Ergebnis dieser Zusammenstellung ist jedenfalls auffallend und zeigt, daß eigentlich der größte Teil aller von uns beobachteten Impfmyelitiden in Zusammenhang mit ganz bestimmten Impfperioden in Erscheinung treten, ein Umstand, der mir ebenfalls sehr für eine ursächliche Bedeutung des Virus fixe, resp. für Charakterveränderungen desselben in bezug auf seine Apathogenität für den Menschen zu sprechen scheint[1]). Eine ähnliche Ansicht wurde zuerst von Fermi vertreten und scheint wohl richtig zu sein.

Daß eine Umwandlung des Verhaltens möglich ist, dürfen wir aus der sicher festgestellten Tatsache schließen, daß in besonderen Fällen das subkutan einverleibte Virus in das Zentralnervensystem des Menschen einzudringen und sich dort zu vermehren und wahrscheinlich auch den Organismus zu schädigen vermag. Wie wir nämlich zeigen konnten, tritt unter uns nicht näher bekannten Verhältnissen im Gefolge der Impfungen bei ausschließlich mit Virus fixe infizierten Menschen Krankheitssymptome auf, die teils völlig dem Bilde der paralytischen Lähmungen entsprechen, in seltenen Fällen aber auch einen der Lyssa mehr oder weniger ähnlichen Verlauf (ausgesprochene Krämpfe, psychische und motorische Unruhe, erhöhte Reflexerregbarkeit, Schluckbeschwerden, Sprachstörungen, Auslösbarkeit tonischer Krämpfe durch Geräusche und Berührung) nehmen können. Dabei finden sich im Zentralnervensystem Veränderungen, die außerordentlich jenen nach echter Wutinfektion gleichen, und wobei wir, wie es scheint, gar nicht so selten, in den verschiedensten Anteilen des Zentralnervensystems den lebenden und für Kaninchen infektionstüchtigen Erreger der sogenannten Passagewut feststellen können.

Aus diesen Tatsachen scheint uns mit großer Wahrscheinlichkeit die Schlußfolgerung berechtigt, daß Virus fixe gelegentlich und unter uns nicht näher bekannten Umständen seine Apatho-

1) Es wäre natürlich sehr wünschenswert, durch vergleichende Zusammenstellung anderer Institute zu erfahren, ob dieses Ergebnis ein mehr zufälliges oder allgemein geltendes ist.

genität für Menschen bei subkutaner Einverleibung ähnlich wie für den Hund verlieren kann, also in dieser Beziehung einer Umwandlung fähig ist. Es erreicht dabei vielleicht nicht die volle Pathogenität, vielmehr die Gleichheit des Charakters des ursprünglichen Straßenvirus, so daß vielleicht noch eine besondere Disposition dazu kommen muß, und die durch dieses Virus erzeugte Krankheitsform weicht gegenüber der Straßenwuterkrankung sowohl in den Symptomen der Erkrankung als auch im histo-pathologischen Bilde (Mangel von Negri-Körperchen etc.), wenn auch nicht wesentlich, so doch merklich ab, und steht dabei dem Symptomenkomplex der stillen oder paralytischen Wut, das sind vielleicht die rein toxischen Krankheitsbilder, näher[1]).

Besonders auffallend bleibt bei den von uns beobachteten Fällen mit positivem Virusnachweis und schwersten histopathologischen Veränderungen nach Högyes Impfung die fast gleiche und von den sonst nach Pasteur-Impfung beobachteten Myelitiden abweichende Inkubation der Erkrankung vom Beginne der Schutzimpfung. Sie beträgt für die Fälle mit positivem Virusnachweis 30—34 Tage vom Impfbeginne. Da besonders die beiden letztangeführten Fälle sich zeitlich in bezug auf die Impfung sehr nahe stehen und beide diese gleich lange Inkubation aufweisen, spricht dies wohl ebenfalls für eine ursächliche Bedeutung des Impfstoffes einer bestimmten Impfperiode.

Wir glauben auch annehmen zu dürfen, daß unter dem schädigenden Einfluß des Eindringens, der Vermehrung und Giftproduktion von Virus fixe im Zentralnervensystem das Auftreten interkurrenter Erkrankungen begünstigt werden kann, wie auch umgekehrt bestehende Defekte, wie wir sie bei Neuropathen, Potatoren etc. vorfinden, sowie den Organismus treffende Traumen, z. B. Erschöpfung, Verkühlung, akzidentelle Erkrankungen, das Pathogenwerden des Virus fixe begünstigen können.

Zu alledem kommt, daß das von uns beobachtete gehäufte Auftreten von Impfschäden im Anschlusse an ganz gewisse Impfperioden, vielfach ganz unabhängig von der Art der Impfung (Pasteur, Högyes etc.) stattfindet.

Die Annahme, daß Virus fixe gelegentlich als harmloser Parasit und durch längere Zeit sich im Zentralnervensystem der Geimpften aufhalten und bei Uebertragung nachgewiesen werden kann, steht eher der Auffassung über die Apathogenität dieses Virus für den Menschen als der unseren entgegen; umsomehr, wenn wir, auch ohne dadurch eine direkte Analogie zu ziehen, auf jenen merkwürdigen Fall verweisen, in dem die Inkubation für den Ausbruch der Erkrankung von Straßenwut

1) Es wäre immerhin möglich, daß der wesentliche Unterschied des an den Kaninchenorganismus gewöhnten Virus fixe in verstärkter Toxinproduktion beruht, was wiederum bei Erkrankung im Vorherrschen der Lähmungen zum Ausdruck käme. Auffallend ist jedenfalls die Aenderung, die Virus fixe bei Uebertragung auf andere Tierarten erleidet, und daß bei positivem Negri-Befund, vielleicht dem Zeichen starker Vermehrung des Virus, die sonstigen histologischen Veränderungen weniger ausgeprägt sind. So löst das Virus fixe, auf Meerschweinchen übertragen, sehr häufig rasende Wut aus, wogegen die Kaninchen an tödlicher Lähmung erkranken. Es ist auch auffallend, daß fast alle Virus fixe trotz gleich bleibender Virulenz für das Kaninchen zuerst ihre subkutane und meist auch ihre intramuskuläre Infektionskraft im Laufe der Zeit und der Kaninchenpassagen verlieren, und nur wenige Stämme (Fermi) diese Eigenart des Straßenvirus dauernd beibehalten. Es wäre auch möglich, daß das Virus fixe durch Gewöhnung und Art der Ueberimpfung im Rückenmark, speziell in den oberen Anteilen die Prädilektionsstelle seiner Vermehrung findet.

über 500 Tage angedauert hat. Da der betreffende Gebissene unter ständiger Angst vor Lyssaerkrankung stand, ist die Annahme einer neuerlichen Infektion, die übersehen worden wäre, wohl auszuschließen. Nun wissen wir über das Lyssavirus so wenig, daß es vielleicht berechtigt ist, zu sagen, wir würden den größten Fehler dadurch begehen, daß wir vorweg annehmen, das Virus fixe sei eine unwandelbar von Straßenvirus unter allen Umständen streng abgetrennte, für Menschen apathogene Form, bei welcher jeglicher Rückschlag oder Uebergang unter allen Umständen ausgeschlossen werden kann. Dagegen sprechen zahlreiche Tierversuche mit anderen Tierarten und die Verschiedenheiten der einzelnen Virus fixe-Stämme selbst. Auch aus dem Gebiete der Blatternimpfung ließe sich manche Beweisführung gegen diese Auffassung heranziehen.

Es erübrigt sich nun nur noch diese alte, aber auf neue Tatsachen gestützte Ansicht über die mögliche ursächliche Beziehung von Virus fixe zur Impfmyelitis jenen Auffassungen, die diese Möglichkeit ausschließen, gegenüber zu stellen. Allerdings möchte ich noch einmal betonen, daß das Hauptargument für diesen letzteren Standpunkt die Tatsache bildete, daß fast alle Uebertragungsversuche von Myelitisfällen im Tierversuch bisher negativ waren und die wenigen positiven angezweifelt wurden. Dies könnte aber mit einer gesteigerten Giftproduktion und verringerten Vermehrung des Virus fixe im menschlichen Organismus zufolge einer Umwandlung im Kaninchenorganismus zusammenhängen.

Was die Möglichkeit betrifft, daß Myelitis durch abgeschwächte, sagen wir vielleicht besser, durch stärker toxinproduzierende Straßenwut hervorgerufen sei, so können wir, wenn wir die ursächliche Bedeutung der Virus fixe-Infektion für das Zustandekommen gewisser Myelitisformen anerkennen, auch diese nicht absolut von der Hand weisen, umsomehr, als z. B. Hunde sowohl nach Straßenvirus-Infektion als nach Infektion mit Virus fixe an Paraplegien erkranken können, also einem der Myelitis sehr verwandten Krankheitsbilde mit fast gleichem histopathologischen Befunde[1]). Auch verweise ich hierbei auf den serienweisen Wechsel des Auftretens von stiller und paraplegischer Wut beim Kaninchen nach Straßenvirusinfektion. Ueberdies haben wir einen Fall beschrieben, in dem die positive Uebertragung eines merkwürdig veränderten Virusstammes insofern vorliegt, als bei Tierpassagen, bei welchen die Versuchstiere nach ausgesprochener Inkubation aber ohne bestimmte Diagnose starben, im Laufe der Passage typische Lyssa-Erkrankung auftrat und so das Virus verifizierte. Ob diese Möglichkeit durch Vorgänge im Entwicklungszyklus des Virus und durch natürliche Abschwächung desselben, oder durch andere Einflüsse bedingt wurde, darüber ist es allerdings schwer, etwas Bestimmtes auszusagen. Wenn demgegenüber behauptet wird, daß eine analoge Genesung des durch Biß infizierten Tieres, wie wir sie beim Menschen nach Myelitis sehen, niemals beobachtet werde, so müssen wir zugeben, daß wir über die Möglichkeit des Vorkommens abortiver Lyssa bei Tieren, wie solche beim Menschen sich lediglich in Gemütsdepressionen etc. äußern kann, gar

1) In unseren Gegenden ist übrigens das Krankheitsbild der stillen Wut unter den Hunden in ständiger Zunahme, die rasende Wut wird immer seltener. Sehr viele Fälle bieten aber gar kein ausgeprägtes Krankheitsbild, sie verlaufen unter Staupeähnlichen Erscheinungen. Es wäre dringend notwendig, auch bei negrinegativem Befunde stets Uebertragungen vorzunehmen, da möglicherweise unter Hunden auch bei natürlicher Infektion der Myelitis verwandte Krankheitsformen gar nicht so selten vorkommen können, die vom Tierarzte nach dem klinischen Bilde allein sehr leicht übersehen werden können und auch schon nachweisbar übersehen wurden.

nichts aussagen können, weil uns die Möglichkeit einer analog genauen Beobachtung am Tiere fehlt. Dennoch liegen positive histologische Befunde auch bei Hunden vor, bei denen die behandelnden Tierärzte niemals Symptome von Wut feststellen konnten. Diese Tatsachen schließen doch gewiß nicht die Möglichkeit des Vorkommens abortiver Wut auch bei Hunden aus [1]).

Schließlich hat sich durch die letzt bekannt gewordenen positiven Uebertragungen von Virus fixe nach Myelitis die Zahl der positiven Fälle so vermehrt, daß die ganze Statistik in dieser Hinsicht verschoben erscheint. Wenn man früher annehmen konnte, daß der positive Nachweis von Straßenwut im Zentralnervensystem bei an Myelitis Verstorbenen nur der Beweis der Anwesenheit dieses neurotropen Virus bedeute, ohne daß man daraus einen Schluß auf die ätiologische Bedeutung zur Erkrankung selbst ziehen dürfe, so erfährt diese Tatsache nun doch eine ganz andere Bedeutung, nachdem man auch Virus fixe mehr oder weniger reichlich vermehrt im histopathologisch typisch veränderten Marke von an Myelitis Verstorbenen nachweisen konnte, die niemals von einem wutkranken Tiere gebissen, sondern ausschließlich schutzgeimpft worden waren.

Warum wir das Virus nicht in jedem Falle nachweisen können, hängt vielleicht nur von uns unbekannten Faktoren ab. Möglicherweise sind gerade oft die am stärksten veränderten Stellen des Rückenmarkes (Lendenmark, Landrysche Paralyse etc.) vorwiegend, vielleicht ausschließlich, durch toxische Einflüsse von Wutgiften verändert worden und das Virus fixe selbst sitzt weitab an besonderen Prädilektionsstellen. Aber gerade wenn die Anwesenheit von Virus fixe im Zentralnervensystem eine so belanglose, rein neurotrope wäre, dann mußte sich dasselbe eigentlich immer, oder doch sehr oft, nachweisen lassen.

Was die relativ kurze Inkubation für das Auftreten der Myelitiden betrifft, so erscheint sie, wenn wir als Ursache Lyssa-Virus annehmen, wenigstens für Virus fixe wohl nach der relativ massiven Infektion, besonders aber dann erklärlich, wenn wir an eine gesteigerte Toxinproduktion glauben, vorausgesetzt, daß wir im Impfmaterial überhaupt ein infektionstüchtiges Virus annehmen. Auch sind die von uns beobachteten Inkubationszeiten der angeführten Fälle mit 30 Tagen wohl ausreichend. Wir wissen ferner gar nichts darüber, ob wir jenes Virus fixe, welches sich bei an Myelitis Verstorbenen im Zentralnervensystem vorfindet, schlechtweg noch als ein abgeschwächtes für den Menschen bezeichnen dürfen [2]). Das bisherige Ergebnis bei der Uebertragung im Tierversuch spricht gewiß nicht für die Berechtigung einer solchen Annahme und über seine Beziehung zum Menschen wissen wir eben nichts. Das Virus könnte ja, wie erwähnt, abgesehen von der Pathogenität im allgemeinen, auch seinen Charakter in bezug auf Toxinproduktion etc. geändert haben, wodurch das sich äußernde Krankheitsbild naturgemäß mitgeändert wird, das könnte für Straßenwut und Virus fixe gelten, für das Entstehen stiller oder rasender Wut, je nachdem vielleicht mehr

1) Remissionen scheinen ja tatsächlich analog wie beim Kaninchen vorzukommen.

2) Es wäre angezeigt, zugleich mit den Kaninchen auch Hunde mit solchen Virus fixe zu impfen.

die Vermehrung in gewissen Zentren oder die Giftproduktion als solche vorherrschen würde[1]).

Ein Einwand, den Schweinburg gegen die Annahme Kochs, daß die Myelitis durch abgeschwächtes Straßenvirus hervorgerufen werde, erhebt, erscheint allerdings derzeit noch von wesentlicher Bedeutung, daß nämlich noch kein Fall von Myelitis bei Gebissenen, aber Nichtschutzgeimpften beobachtet worden sei. Dies spricht aber keineswegs gegen die Aetiologie des Virus fixe zur Myelitis, sogar zu solchen Erkrankungen, die unter ausgesprochenen Lyssasymptomen verlaufen können, wie jene 5 Fälle, die Bareggi beobachtete und die durch unseren angeführten Fall Rudolfine W., die gar nicht von einem Tiere gebissen wurde, nun ganz besonders an Bedeutung gewinnen. Auch spricht die Beobachtung Bareggis (5 gleichzeitig aufgetretene Fälle) ganz im Sinne unserer Auffassung von einer periodenweisen Aenderung des Charakters des Virus fixe, wozu natürlich auch eine gewisse individuelle Veranlagung des Geimpften notwendig sein kann, um die Ursache dieser Erkrankungen, vor allem ihre Schwere, zu bedingen. In dieser periodischen Aenderung liegt wohl auch die Hauptursache, warum die oft erhobenen, schönsten Statistiken, wir selbst könnten eine solche durch 2 Jahre nach Einführung des Högyesschen Verfahrens aufstellen, an anderen Stellen infolge plötzlicher Zwischenfälle nicht bestätigt werden können. Die Ergebnisse der jeweiligen Statistik über das Vorkommen von Lähmungen im Gefolge der Lyssaschutzimpfung sind vielleicht zum größeren Teile von Eigenarten des Virus als von der Impfmethode selbst abhängig, und so erklärt sich auch das an allen Instituten beobachtete ungleichmäßige Auftreten von Myelitiden bei gleicher Impfmethode[2]).

Der Einwand, daß Myelitisfälle auch dann beobachtet werden, wenn die Impfungen mit stark abgeschwächtem oder sogar durch Erhitzen abgetötetem Mark vorgenommen werden, würde ja nicht ins Treffen fallen, wenn wir an die Möglichkeit der ursächlichen Wirkung von abgeschwächtem Straßenvirus glauben. Der Einwand gilt nur für die Annahme einer alleinigen ursächlichen Bedeutung des Virus fixe. Aber auch hier ist der Beweis der Abschwächung am Kaninchen geprüft, nicht beweisend für die eventuelle gleichartige Wirkung im Menschen, insbesondere geprüft an der Verschiedenheit resp. Verlängerung der Inkubationszeit für das Kaninchen und für ein Pathogenwerden überhaupt. Was das Auftreten von Myelitis nach Impfungen mit solchem Marke betrifft, in welchem die Erreger durch Erhitzen abgetötet wurden, so ist wohl die Annahme berechtigt, daß es sehr wohl physikalische Vorbedingungen geben kann, die das eine oder andere Mal ein im Inneren des Markes oder in bestimmten Partien desselben gelegenes Virus vor der Einwirkung der Wärme bewahren können, genau so wie es bei Abtötungen durch chemische Einflüsse auch in Suspensionen geschehen

1) Es ist in dieser Richtung auch auffallend, daß die Lage der Negri- und der Passagewutkörperchen eine ganz verschiedene ist. Auch könnte in dieser Richtung die ständige Verimpfung von Rückenmarksteilen von Tier zu Tier die Prädilektion für den Ort der Haftung begünstigen. Auffallend ist es ferner, daß passagewutähnliche Körperchen häufig dann gefunden werden, wenn sich der Tod der Versuchstiere verzögert, das Virus also längere Zeit zur Entwicklung und Ausreifung hat.

2) Es sollten, wenn die Vermutungen richtig sind, in allen Instituten nur solche Vira zur Impfung verwendet werden, die keine Tendenz zur Charakteränderung haben, bei deren Verwendung Myelitiden nicht beobachtet wurden. Dies scheint bei Högyes der Fall zu sein.

kann. Schließlich dürfen wir in dieser Richtung nur Fälle vergleichen, die restlos durch die Autopsie geklärt wurden, da die Symptomatologie zu Täuschungen führen könnte. Es könnte auch sein, daß wirklich verschiedene Aetiologien den Symptomenkomplex der Myelitiden verursachen können, wobei die Impfung lediglich einem Trauma gleichzustellen wäre, z. B. vielleicht bei latenter oder im Initialstadium befindlicher multipler Sklerose, oder anderer bereits vorliegender Schädigungen des Zentralnervensystems, doch könnte dies die allgemeine Auffassung für die Mehrheit der Fälle nicht beeinträchtigen.

Was schließlich die ätiologische Rolle von Wuttoxinen zur Myelitis im allgemeinen anlangt, so möchte ich dazu folgendes bemerken: Wenn wir auch über die Wesenheit dieser Toxine so viel wie gar nichts wissen, so scheint doch der histo-pathologische Befund, insbesondere wie wir ihn im Marke selbst und an den Gefäßen desselben sehen, sehr für die Existenz derselben zu sprechen. Ganz besonders aber scheint mir dafür die Tatsache zu sprechen, daß man so oft bei Uebertragungsversuchen von Myelitiden ein negatives Resultat erhielt, welche Tatsache nunmehr nach dem Bekanntwerden der letzten positiven Uebertragungen doch in ganz anderes Licht gerückt wird und mir sehr für die Existenz solcher, das Nerven- und Gefäßsystem schwer schädigender Gifte des Lyssaerregers zu sprechen scheint. Ganz besonders aber scheint mir dafür das häufige Vorkommen abortiver Myelitiden und das häufig zeitlich so ganz verschiedene Abklingen der Erscheinungen schwererer Myelitisformen zu sprechen. Das so oft beobachtete plötzliche Einsetzen der Myelitis spricht ebenfalls für eine toxische Wirkung eines neurotropen Giftes. Ich glaube aber dabei weniger an eine Wirkung von Toxinen, die bei der Impfung schon mit dem Impfmaterial übertragen werden[1]), vielmehr an die Wirkung erst im Organismus durch lebendiges Virus erzeugte Toxine. Diese Auffassung deckt sich mit der Annahme der ursächlichen Bedeutung des Virus fixe für das Entstehen der Myelitis und einem möglichen Zugrundeliegen einer Charakteränderung des Virus.

Die Annahme, daß die Myelitis eine toxische Erkrankung sei, ist insbesondere in neuester Zeit, wenn auch unter Zugrundelegung einer anderen Auffassung und gestützt auf zahlreiche Tierversuche, von Schweinburg vertreten worden, dem die letzten positiven Übertragungen damals allerdings noch nicht bekannt gewesen waren. Schweinburg erblickt in der Nervensubstanz, die mit dem Virus mitverimpft wird, die eigentliche ätiologische Ursache der postvakzinalen Lähmungen, und er stützt seine Ansicht nicht nur auf ein reiches statistisches Material, auf logische Konklusionen der bestehenden Erfahrungen, sondern vor allen Dingen auf die Ergebnisse seiner zahlreichen Tierversuche. Schweinburg steht mit dieser Auffassung nicht allein. Schon Remlinger, insbesondere Müller, haben eine solche Möglichkeit ins Auge gefaßt, der aber von Babes lebhaft widersprochen wurde. Babes impfte 65 neuropathisch veranlagte Menschen mit Schaf- und Kaninchenhirn mit je 20 Injektionen und sah niemals einen Zwischenfall eintreten. Aehnliche Versuche führte er in zahlreichen Tierversuchen mit dem gleichen negativen Erfolg aus. Dagegen haben

1) Es ist doch anzunehmen, daß derartige neurotoxische Gifte im Impfstoffe nicht frei vorhanden, sondern im Nervengewebe fest verankert sind, also nicht ohne weiteres bei der Resorption in Freiheit gesetzt werden. Das würde gegen unsere ganzen sonstigen Erfahrungen sprechen.

Centani und Aujetzky beobachtet, daß Kaninchen die wiederholte subkutane Injektion von Nervensubstanz schlecht vertragen, daß sich sterile Hautabszesse bilden, und daß die Tiere an den Folgen dieser Injektionen unter Abmagern eingehen können. Ich kann aus eigenen Versuchen diese Angaben ebenfalls bestätigen, die nach Injektion am Rücken entstandenen sterilen Abszesse können sich senken und schließlich zu schwersten Infiltraten und Indurationen der Bauchdecken führen. Bei allen diesen Versuchen steht aber die Abmagerung, der Marasmus im Vordergrunde jener Erscheinungen, die zum Tode führen. Heller und Berterelli nahmen bei ähnlichen Versuchsreihen mit keimfreien Lyssahirn und normaler Nervensubstanz von eingegangenen Tieren Uebertragungen vor, die stets negativ waren. Aus diesen Versuchen ging eine, wenn auch keineswegs konstante toxische Wirkung der injizierten Nervensubstanz, die zu Marasmus und Tod führen kann, hervor.

Während aber Centani und Aujetzky die Giftwirkung scheinbar erst während der schlechten Resorption der Nervensubstanz entstehen lassen, ist diese nach Marie schon durch Abbau und Zerfall der Nervensubstanz, besonders durch das Erhitzen, aber auch das Trocknen des Markes in diesem selbst vorgebildet, und vielleicht deshalb würden die Auswirkungen dieser Gifte bei der Högyes-Methode, wobei nur frische Nervensubstanz injiziert wird, fast völlig in den Hintergrund treten.

Obgleich die durch derartige unbekannte Gifte hervorgerufenen Krankheitsbilder von denen der postvakzinalen Lähmungen doch verschieden sind, war immerhin ein Analogieschluß auf gleiche Aetiologie für die menschliche Myelitis daraus gezogen worden.

Dazu kamen aber noch die Ergebnisse der immunbiologischen Forschungen. Rochaix und Durand fanden in einem Falle von Myelitis, daß das Serum des betreffenden Menschen in gleicher Weise gegen Menschen- wie Kaninchenhirn gerichtete Abbausubstanzen enthielt. Aehnliche Abbaufermente gegen Kaninchenhirn konnten Pribram und Pulay im Serum eines Pferdes nachweisen, das mit Kaninchenhirn vorbehandelt war. Derartiges Serum mit Kaninchenhirn $1/2$ Std. bei 37° digeriert, tötete Meerschweinchen und Mäuse. Ioannovic fand bei Schädelverletzungen, die mit Zerstörung von Hirnsubstanz einhergingen, einen eigenartigen pathologischen Befund, der ihm den Gedanken nahe legte, daß es sich dabei um die Wirkung von Fermenten handle, die durch die Resorption des zertrümmerten Hirngewebes entstehen und dann gegen das eigene Gewebe schädigend wirken können. Ioannovic konnte diese Auffassung durch sehr schöne Tierversuche experimentell stützen und damals auf gewisse Möglichkeiten für das Zustandekommen der Lähmungen bei Lyssaschutzimpfungen hinweisen, was allerdings ein schweres vorausgehendes, die Hirnsubstanz treffendes Trauma zur Voraussetzung habe.

Schweinburg, durch diese Versuche angeregt, ging nun an die experimentelle Lösung dieser Frage in bezug auf die postvakzinalen Lähmungen. Er konnte bei Kaninchen durch wiederholte Injektionen von Menschenhirn regelmäßig Gewichtsabnahme der Versuchstiere hervorrufen. Ein Teil der Tiere erkrankte aber während oder 12 Tage nach der Behandlung an schlaffen Lähmungen, von dem wiederum ein beträchtlicher Prozentsatz einging.

Der hierbei erhobene histopathologische Befund ergibt entzündliche und degenerative Veränderungen von ganz ähnlichem Charakter

und Ausmaße, wie wir sie bei Impfmyelitis zu sehen gewohn sind. Schweinburg fand demnach, daß bei Kaninchen, die nach dem Impfschema von Pasteur und Babes-Puscarius mit normaler Nervensubstanz geimpft werden, die nach Inkubation, klinischem Verlaufe und histologischem Befund den postvakzinalen Paralysen, die beim Menschen nach Pasteurscher Schutzimpfung auftreten, vollkommen entsprechen. Kein einziges Versuchstier aber erkrankte, wenn die Impfungen mit frischem Rückenmark (von Menschen oder arteigenes) nach der Verdünnungsmethode von Högyes vorgenommen wurden. Daraus schließt Schweinburg, daß ausschließlich die Nervensubstanz, und zwar abhängig von der injizierten Menge, die beobachteten Lähmungen hervorrufe. Welcher Anteil der Nervensubstanz zukommt, ob sie es zur Gänze ist, oder nur ein Teil von ihr, die diese lähmungserzeugenden Giftstoffe darstellen, darüber herrsche noch keine klare Vorstellung. Es scheint aber, daß die Aetherbehandlung der Gehirne (Methode Alivisatos) diese giftige Komponente auszuschalten vermag.

Damit ist also Schweinburg zur Anschauung gelangt, daß die letzte Ursache für die beobachteten Lähmungen in giftigen Substanzen des injizierten Nervengewebes, und zwar primär in diesem selbst zu suchen sei, weil ausschließlich die Art der Impfmethode die letzte erkennbare Ursache abgebe.

Wenn wir diese Ergebnisse und Ansichten, soweit sie die Möglichkeit einer ursächlichen Bedeutung der Nervensubstanz für das Zustandekommen der Lähmungen ins Auge fassen, näher betrachten, dann finden wir, daß sie keineswegs miteinander übereinstimmen oder sich gegenseitig begründen, weil insbesondere die Voraussetzungen über die Wirkungsweise der Nervensubstanz und die Ansichten über die Art, wie es zu den Lähmungen kommen soll, sehr voneinander abweichen.

In dieser Beziehung können wir folgende Richtlinien aufstellen:

1) Die Nervensubstanz, wie sie zur Injektion nach dem Verfahren von Pasteur oder Babes-Puscarius verwendet wird, ist an sich toxisch, entweder zufolge der Vorbehandlung oder der einverleibten Menge; frische Nervensubstanz ist im allgemeinen ungiftig und erzeugt keine Lähmungen im analogen Tierversuche (Schweinburg). — 2) Die Nervensubstanz ist primär noch nicht toxisch, die Gifte entstehen erst zufolge der schlechten Resorption im Organismus selbst (Centani, Aujetzky). — 3) Artfremde Nervensubstanz ruft Antikörperbildung hervor, die bei Zusammentreffen mit der betreffenden Nervensubstanz giftige Spaltprodukte aus dieser erzeugen (Pribram und Pulay). — 4) Arteigene Nervensubstanz, wenn diese zur Resorption gelangt, wirkt im Sinne Abderhaldens blutfremd, es entstehen Abwehrfermente, die toxisch auf das arteigene Nervengewebe vielleicht in Form von Zerebrolysinen einwirken (Ioanovic).

Was die sub 1) angeführte Theorie Schweinburgs betrifft, so kann sie für die späterhin an unserem Institute zur Beobachtung gelangten und nach der Högyes-Impfmethode aufgetretenen Myelitiden keine Geltung haben. Ebenso ist es auffallend, daß eines von drei Kaninchen, die mit erhitzter Muskelsubstanz vorbehandelt worden waren[1]), in gleicher Weise und nach bestimmter Inkubationszeit wie die mit

1) Ich verweise diesbezüglich auf meine Arbeit über das experimentelle Entstehen sekundärer Anämien durch verschiedene Bakterienextrakte (Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. 1921), aus der sich eine gewisse Analogie zu dieser Frage ziehen läßt.

getrocknetem Marke behandelten Tiere erkrankte, und sogar denselben histopathologischen Befund aufwies, wie diese. Es würde demnach schon das fragliche Gift kein spezifisch der Nervensubstanz entstammendes sein können. Auch wäre es nach dieser Auffassung eines in der Nervensubstanz präformierten Giftes nicht verständlich, warum dem Ausbruche der Myelitis eine auffallend gleiche Inkubationszeit vorausgehen sollte. Die empfänglichen Neuropathen müßten wohl viel früher auf das Gift reagieren als andere Personen, und sehr große Unregelmäßigkeiten im zeitlichen Auftreten zur Beobachtung kommen.

Selbst wenn man daran denken würde, daß infolge physikalischer Einflüsse, z. B. Trocknen des Markes, beim Zugrundegehen der Zellen Substanzen aus diesen frei werden, die etwa ähnlich, wie man dies für den Bakteriophagen annehmen kann, fermentartig deletär auch auf die lebende Zelle weiter einwirken, dann müßten analoge Uebertragungsversuche öfters positiv ausfallen, ja sogar im Reagenzglase vorbereitet werden können.

Auch erscheint mir das im Vordergrunde der tierexperimentellen Erkrankung stehende Bild der außerordentlichen Abmagerung, des Marasmusses etc., doch vom Bilde der menschlichen Myelitis wesentlich verschieden zu sein.

Gegen die zweite Auffassung, daß die Gifte erst im Organismus aus dem Nervengewebe freigemacht werden, spricht die Tatsache, daß wir die Myelitis keineswegs dort am häufigsten auftreten sehen, wo die Resorption verzögert, die lokalen Reaktionen am ausgeprägtesten sind. Auch würden dann wahrscheinlich im histopathologischen Bilde die Unterschiede zwischen entzündlichen und degenerativen Erscheinungen ausgesprochen sein. Die Myelitiden müßten an allen Instituten gleichmäßiger und ziemlich unabhängig von der Impfmethode zur Beobachtung gelangen. Auf keinen Fall würde aber die speziell in unseren angeführten Fällen fast einheitlich gleiche Inkubationszeit der Erkrankung zu erklären sein.

Das von Přibram und Pulay beobachtete Auftreten spezifischer Antikörper im Blutserum mit artfremder Nervensubstanz behandelter Tiere hat natürlich nichts mit primären oder unbestimmten Giften der Nervensubstanz zu tun.

Es ist ein rein immunbiologischer Vorgang, und wenn wir ihn in Beziehung zu den Lähmungen bringen dürfen, dann könnte die Giftbildung nur in streng spezifischer Weise durch Zusammentreffen von spezifischem Antigen und Antikörper entstehen. Die wahrscheinlichste Analogie wäre jene zur Serumerkrankung, wo während, aber noch vor der vollendeten Resorption des Antigens schon spezifische Antikörper ausgebildet werden. Dann aber dürften wir erwarten, daß die Lähmungen regellos ohne Inkubation und wohl auch schon im ersten Impfbeginn in Erscheinung treten könnten resp. müßten. Das Auftreten von plötzlich einsetzenden Lähmungen 30 Tage und darüber nach Beginn der Impfung wäre wohl kaum durch diesen spezifisch und nur auf das Kaninchenhirn eingestellten spezifischen Vorgang zu erklären. Auch würden wir wohl hier und da einmal bei den Impfungen auf ausgesprochene idiosynkratische Individuen stoßen müssen, wenn derartige, durch Antikörper und Antigen aus der artfremden Nervensubstanz frei werdende Gifte die Ursache von schwersten Erkrankungen sind.

Auch die Theorie von Ioannovic hat zur Voraussetzung, daß arteigene, wenn auch blutfremde Hirnsubstanz zur Resorption kommt,

wie dies bei schwerem Trauma der Fall sein kann. Dies ist, wie seine Beobachtungen am Menschen und die Ergebnisse der Tierversuche zeigen, die erste Vorbedingung. Dadurch dürften im Sinne Abderhaldens Abbaufermente entstehen, die im Blute kreisen. Aber diese Abbaufermente dürften wohl kaum das gesunde lebende Organeiweiß angreifen, sie werden wohl nur mit dem im Zerfall begriffenen oder bei Fortbestand eines pathologischen Prozesses in das Blut durch Resorption übertretende Organeiweiß in Reaktion treten können. Bei diesem Zusammentreffen werden gewiß giftige Spaltprodukte entstehen können, die besonders für das Nervengewebe toxisch sein können. Die positiven Tierversuche, die Ioannovic anführt, zeigen bei den durch Schädelhämmerung traumatisch beeinflußten Ratten Vergiftungen erst dann, wenn diesen Tieren Hirnsubstanz nachträglich injiziert wird oder wenn die Hämmerung sehr intensiv durchgeführt und öfters wiederholt wird, so daß genügend lädierte Hirnsubstanz erstmals zum Entstehen der Antikörper und späterhin zum Abbau durch diese bereitsteht. Aber auch dieser Vorgang ist als artspezifisch anzusprechen und setzt ganz bestimmte pathologische Veränderungen voraus, die bei der Impfmyelitis um so weniger gegeben erscheinen, als ja auch keine arteigene Nervensubstanz injiziert wird.

Demnach lassen sich die zur Erklärung eines ursächlichen Zusammenhanges zwischen Impfmyelitis und injizierter Nervenmasse geäußerten Theorien nicht zusammenfassen, es könnte nur jede für sich allein zu Recht bestehen.

Die jüngst bekannt gewordenen Fälle von postvakzinalen Lähmungen mit positiver Uebertragung des Lyssaerregers vom Typus Virus fixe, und zwar sowohl nach Pasteur- als nach Högyes-Impfungen scheinen mir aber doch die eindeutigste Klärung in dieser Frage zu bringen, soferne wir eine einheitliche Aetiologie aller postvakzinaler Lähmungen annehmen.

Nur wenn wir diese ablehnen, gewinnen die einzelnen Theorien an Wert, sonst aber treten sie meiner Ansicht gegenüber der Annahme einer ursächlichen Bedeutung des Virus fixe für die postvakzinale Lähmung zurück; sie können besten Falles nur Erklärungen für Gelegenheitsursachen sein.

Zusammenfassung.

1) Die Anwesenheit von Virus fixe im Zentralnervensystem ist uns bei einer unter klinischen Symptomen von Myelitis verstorbenen Patientin, die nach Pasteur geimpft wurde, 16 Tage nach Beendigung der Impfung nachzuweisen gelungen. — 2) Nach der Högyes-Impfmethode sind innerhalb 2 Jahren 3 tödlich verlaufene Myelitiden mit ausgesprochenem histopathologischem Befunde beobachtet worden, bei denen 20—23 Tage nach Beendigung der Impfung Virus fixe im Zentralnervensystem nachgewiesen werden konnte. — 3) Zwei der Verstorbenen waren mit aller Sicherheit nicht durch Straßenwut infiziert worden. — 4) Die dabei beobachteten klinischen Krankheitsbilder entsprechen keineswegs ausschließlich jenen der typischen Myelitis, es sind auch Symptome einer Lyssainfektion vorhanden gewesen. — 5) Es scheint nach alledem, daß das Impfvirus für diese Erkrankungen ätiologische

Bedeutung gehabt haben könnte. — 6) Bei interkurrent Verstorbenen, die infiziert und geimpft worden waren, fand sich manchmal neben dem Impfvirus ein Straßenvirus möglicherweise noch in unausgereiftem Zustand im Zentralnervensystem vor. Eine ähnliche unausgereifte Entwicklungsform scheint auch bei wutinfizierten, noch nicht unter Impfeinfluß gestellten, interkurrent Verstorbenen (Delirium, Sepsis) auffindbar und möglicherweise als leichter abschwächbares Virus die Ursache der konsumptiven Lyssa zu sein. — 7) Die Myelitisfälle scheinen in einer gewissen Periodizität vielleicht abhängig von Charakterschwankungen des Impfvirus aufzutreten. — 8) Der ursächliche Unterschied von rasender und stiller Wut liegt möglicherweise in verschiedener Entwicklungsintensität und Lokalisation des Erregers einerseits und in der vorherrschenden Toxinproduktion anderseits. — 9) Es wäre denkbar, daß bei der fortgesetzten Verimpfung des Virus fixe durch Rückenmarksteile auf intrazerebralem Wege hierdurch bei diesem Virus Prädilektionen für die Haftung und geändertes Toxinproduktionsvermögen auf Kosten gewisser Entwicklungsstadien eingetreten sind[1]). Damit könnte das Fehlen der Negri-Körperchen und der allmähliche Verlust der subkutanen und intramuskulären Infektiosität des für das Kaninchen bei zerebraler Uebertragung gleichbleibend hochvirulenten Virus fixe in Zusammenhang stehen.

Diese Umwandlung vollzieht sich vielleicht bei einigen Stämmen nur langsam, teilweise und unvollkommen (Stämme Fermi). Rückschläge in der alten Richtung würde Erhöhung der Pathogenität dieser Abart des Virus bedeuten, jedoch immer noch gegenüber dem Straßenvirus im veränderten Krankheitsbilde (Myelitis) erkennbar sein.

Der Rückschlag könnte sich in periodenweiser Häufung der auftretenden Myelitiden zu erkennen geben.

10) Es wäre denkbar, daß gewisse Kaninchenrassen diesen Rückschlag im Vergleiche zu anderen begünstigen könnten, wie dies beim Meerschweinchen der Fall zu sein scheint.

---

1) Vielleicht könnte man als Analogie die zur Syphilisbehandlung verwendete Impfmalaria heranziehen, die heute schon den Entwicklungszyklus in der Mücke verloren hat.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen über das prämonitorische und das periodische Fieber bei Lyssa sowie über die Bedeutung der prämonitorischen Anfälle für die menschliche Wut.

Von Prof. V. **Babes** und S. **Bobes**, Bukarest.

I. Das prämonitorische Fieber.

Diese, im Jahre 1887 von V. Babes (1) entdeckte, oft periodische Temperaturerhöhung im Inkubationsstadium der Wut wurde später von verschiedenen Autoren als rekurrierendes Fieber, intermittierendes Fieber, auch als periodisches, interkurrentes Fieber (fièvre dans la rage à rechutes) bezeichnet.

Alle Autoren stimmen darin überein, daß diese oft periodischen prämonitorischen Fieberanfälle in der Tat existieren und bei Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden ziemlich häufig vorkommen. Ueber einige Punkte sind aber die Autoren anscheinend nicht einig, und zwar namentlich über die Regelmäßigkeit, die verschiedene Dauer, die Höhe des Fiebers und über die Virulenz des dasselbe auslösenden Virus. Wir werden aber sehen, daß ihre Einwendungen auf Mißverständnissen beruhen oder einer reellen Grundlage entbehren.

Was zunächst die Höhe des prämonitorischen Fiebers anbelangt, so behaupten Högyes (1) und auch Herrmann (2), daß die Temperatur von 39—40° bei Kaninchen noch kein Fieber bedeutet und nicht charakteristisch ist.

Allerdings hat sich im „Traité de la rage" an einer Stelle ein Druckfehler eingeschlichen, indem an einer Stelle behauptet wird, daß dieses prämonitorische, remittierende Fieber von 39,9—40° beträgt, was durchaus nicht in der Absicht des Autors lag, wie dies aus allen von ihm veröffentlichten Publikationen hervorgeht. So spricht sich derselbe in seiner 1. Mitteilung über dieses Fieber im Virchow-Archiv von 1887 folgendermaßen aus: „Wenn die Kaninchen mit irgendeinem modifizierten (abgeschwächten) Virus fixe geimpft werden, tritt vor Eintritt der nervösen Symptome nicht immer Fieber auf. — 6—8 Tage nach Einimpfung von solchem Virus kann die Temperatur auf 39,9, ja über 40° steigen, aber diese Temperaturerhöhung geht an den folgenden Tagen in die Norm zurück. Bald darauf kann das Fieber nochmals und selbst wiederholt erscheinen und endlich kann unter diesen Symptomen und nach Erregungszuständen, Temperaturabfall und Paralyse der Tod eintreten, oder das Tier erholt sich. — In mehreren Fällen, in welchen der Tod spät eintrat, ließ das zu bestimmter Zeit eingetretene Fieber nach, und erst mehrere Wochen nachher traten die tödlichen Symptome auf."

Schon diese Beobachtungen von Babes zeigen, daß derselbe kein unabänderliches Schema für das prämonitorische Fieber aufstellt; da er aber dieses Fieber entdeckt hatte, so war dies doch zum Teil seiner Entdeckung zu verdanken, daß auch die Temperaturerhöhung auf 39,9—40° in das Bereich dieses Fiebers gezogen werden darf.

Ohne diese zweite Feststellung wäre wohl das prämonitorische oder rekurrente Fieber in der langen Inkubationszeit vieler Wutfälle wahrscheinlich überhaupt nicht entdeckt worden.

Die Grenze der Temperatursteigerung von 39,9—40,5° wurde übrigens schon 1887 „in den Annales de l'Institut Pasteur" in seiner Antwort auf Högyes Bemerkungen richtig angegeben. Aber auch im Traité de la rage werden im betreffenden Kapitel allein 6mal prämonitorisches Fieber von 39,9—40,5, 40,2° etc. und in 2 Fällen Temperaturen von 40,5° direkt als typisches prämonitorisches Fieber bezeichnet.

In seiner Antwort an Högyes (Annales de l'Institut Pasteur 1887) spricht sich Babes über das rekurrente Fieber folgendermaßen aus: „Dieses Fieber zeigt sich gewöhnlich 4—5 Tage nach der intrakraniellen Inokulation eines modifizierten Virus. Die Temperatur steigt dann auf 39,9—40,5°, aber nur für 1—2 Tage. Gewöhnlich wiederholt sich dieses Fieber mehrere Male."

Högyes ist nicht geneigt, der Temperaturerhöhung auf 39,9—40° irgendeine Bedeutung zuzuschreiben. Doch hat Babes ihn in seiner Antwort hoffentlich überzeugt, nachdem weder er, noch seine Schüler sich seitdem abfällig über die Be-

deutung dieser Temperaturerhöhung ausgesprochen haben, und sein Schüler Löte (5) dieselbe bestätigt. Nur Herrmann steht diesen Angaben kritisch gegenüber, weswegen wir kurz seine gegenteiligen Behauptungen besprechen wollen.

Zunächst erklärt er selbst, öfters periodische Wutanfälle bei Kaninchen und Meerschweinchen beobachtet zu haben, mit anderen Worten, er erkennt die Entdeckung von Babes von periodischen fieberhaften Wutanfällen (fièvre prémonitoire) an. Dann aber glaubt er, diese schmälern zu müssen, indem er behauptet, 1. daß die Anfälle unter verschiedenen Umständen zustande kommen. Daß es verschiedene prämonitorische Fieber bei verschiedenen Krankheiten gibt, ist ja bekannt, und wird natürlich auch von uns nicht geleugnet. Die wichtigsten hier in Betracht kommenden Ausnahmen sind vom Entdecker selbst an zahlreichen Beispielen schon genügend betont worden. — 2. hat Babes selbst in seinen verschiedenen Mitteilungen hervorgehoben, daß bei Hundswut auch Fieber manchmal sehr spät auftritt und selbst fehlen könnte. 3. ist es unrichtig, daß derselbe nicht betont hätte. daß das Fieber zu verschiedenen Zeiten auftreten kann. 4. im Abschnitt „Sur la fièvre prémonitoire de la rage intermittente“ im „Traité de la rage“ hat auch Babes wiederholt betont, daß Fiebererscheinungen auch sehr spät erscheinen können, sowie daß dieses Fieber von verschiedener Stärke erscheint. Auch bemerkte er, daß in diesen Anfällen der Geifer der Hunde virulent sein könne.

Alle diese Umstände und Ausnahmen hat derselbe vorgesehen und gebührend betont, aber dieselben verhinderten ihn natürlich nicht, eine Lyssa recurrens, oder eine Lyssa remittens oder prämonitorische Wutanfälle anzunehmen und zu beschreiben, was ja auch Herrmann nicht tut. Uebrigens hat Babes in seiner Antwort an Högyes dessen Einwände genugsam zurückgewiesen. Es bleibt demnach nichts übrig, was diesen geschätzten Kollegen berechtigt hätte, „zu glauben, daß die Beschreibung des prämonitorischen Fiebers von Babes nicht ganz richtig sei“.

Dies wäre der Fall gewesen, wenn dieser Autor nicht selbst die Ausnahmen, wie solche ja allen biologischen und pathologischen Regeln anhaften, betont hätte.

Ueberhaupt geht es nicht an, mittels minderwertiger Methoden die Resultate vollkommenerer zu kontrollieren.

II. Die Temperatur von 39,9—40 ° bei Lyssa.

Nachdem wir festgestellt haben, daß das prämonitorische Fieber in der Regel 40° überschreitet, und daß es nie unsere Absicht war, bloß die Temperatur von 39—40° als das prämonitorische Fieber zu betrachten, wollen wir kurz auf die Frage eingehen, ob der Temperatur von 39,9—40° nicht doch irgendwelche Bedeutung zukommt. Wenn dies nicht der Fall wäre, hätte Babes diese Temperatur überhaupt nicht erwähnt.

In der Tat hat derselbe die Temperaturerhöhung von 39,9—40° auch in Betracht gezogen, obwohl Högyes und andere dieser Temperatur keine Bedeutung zuerkennen. Sorgfältige Temperaturmessungen zeigen nämlich, daß diesen niederen, subfebrilen Temperaturen dennoch in vielen Fällen von Hundswut eine gewisse Bedeutung zukommt.

Allerdings kommt diese Temperatur manchmal auch bei nicht augenfällig kranken Kaninchen vor; 1. aber konnte derselbe doch nachweisen, daß dieselben besonders bei frischen Kaninchentransporten beobachtet werden, welche von weither ohne Sorgfalt zusammengepfercht, unreinlich gehalten und schlecht genährt werden, und von welchen immer mehrere tot oder fieberhaft ankommen und bald eingehen. — Nach Auswahl der gesunden Kaninchen mit Hilfe der Temperatur- und Gewichtsmessung und ihrer Uebertragung in gesunde Stallungen mit gutem Futter erholen sich aber viele Kaninchen und zeigen dann bei täglicher Messung nur selten 39,9—40°, sowie den entsprechenden Gewichtsverlust. 2. kann man sich überzeugen, wenn man mit solchem gesunden Material arbeitet, daß bei demselben eine periodische Temperatursteigerung auf 39,9—40° durchaus nicht normal ist. Im Gegenteil zeigte V. Babes, daß dieselben im Verein mit Gewichtsabnahme und öfters mit leichten

vorübergehenden Reizzuständen oder Paresen ebenfalls als periodische Wutfälle zu betrachten sind.

3. kann man behaupten, daß nach Impfung mit geeignetem Material gewöhnlich eine Kombination dieser subfebrilen mit febriler Temperatur beobachtet wird, was der deutlichste Beweis für die Häufigkeit des remittierenden Fiebers ist, und daß es demnach für diesen Beweis notwendig ist, die verwendeten Tiere sorgfältig auszuwählen. — Dann findet man in mehr als der Hälfte der Fälle das prämonitorische Fieber, also mit febriler und subfebriler Temperatur, während, wenn wir die vorherige Sektion der Tiere unterlassen, häufig Temperaturerhöhungen, allerdings aus anderer Ursache, das Bild des periodischen Fiebers trüben.

4. Sowohl Högyes als auch Löte und Herrmann bezweifeln nicht die Realität des Fiebers, sondern sie meinen bloß, daß dasselbe weniger regelmäßig ist, als dies der Entdecker behauptet. Doch haben dieselben augenscheinlich keine Vorsichtsmaßregeln ergriffen, um das störende, oben betonte Fieber aus anderen Ursachen möglichst auszuschließen.

Es ist schon von vornherein wahrscheinlich, daß, wenn mittels unseres Verfahrens ein ziemlich regelmäßiges Fieber konstatiert werden kann, während mittels eines anderen, weniger sorgfältigen Verfahrens die Regelmäßigkeit des Fiebers oft nicht gefunden werden kann, es sich gewöhnlich darum handelt, daß die Nachprüfung nicht ebenso sorgfältig erfolgt war, wie die 1. Untersuchung.

Es ist bedauernswert, daß die Nachuntersucher diesem Forscher nicht volle Gerechtigkeit widerfahren ließen, indem z. B. Löte behauptet, daß „er, im Gegensatz zu Babes“, die Lyssa-Recurrens nur durch Wutvirus mittelstarker Virulenz hervorrufen konnte, während ganz dasselbe doch auch aus V. Babes' Untersuchungen klar hervorgeht, in denen derselbe aber noch betont, daß nicht bloß die Stärke des Virus, sondern auch die Empfänglichkeit und Art der Versuchstiere, sowie die Technik der Impfung des Versuchstieres in Betracht kommt. Ebenso bemängeln andere Forscher dessen Resultate, indem sie Fälle von langdauerndem hohen Fieber oder Spätfieber beschreiben, was unseren Angaben aber durchaus nicht widerspricht, da V. Babes auch manche derartige Fälle beschrieben hat. — Es bleibt demnach keine Angabe dieser Forscher gegenüber den Konstatierungen Babes' berechtigt, und empfehlen wir denselben, ihre Kontrolluntersuchungen mit untadelhaften Methoden und namentlich auch mit der notwendigen großen Zahl von Versuchstieren zu wiederholen, bevor sie ein endgültiges Urteil abgeben, besonders in einer Frage, welche offenbar berufen ist, auch bei menschlicher Wut eine Rolle zu spielen.

III. Die Bedeutung der prämonitorischen Anfälle für die menschliche Wut.

Lange Zeit konnten wir trotz unserer darauf gerichteten Aufmerksamkeit unter Tausenden von Fällen menschlicher Wut oder von wütenden Tieren Gebissener keine Bisse durch Tiere nachweisen, welche sich im Stadium des prämonitorischen periodischen Fiebers oder Anfalles befanden.

Der 1. derartige Fall kam 1890 in unserem Institute zur Beobachtung. Es handelte sich um 2 Kinder, welche in Bukarest von ihrer kleinen Katze gebissen wurden. — Die Katze wurde in unser Institut gebracht und in einen Käfig gesperrt. Sie zeigte alle Anzeichen einer furiösen Wut und versuchte zu beißen und zu kratzen,

schleuderte reichlich Speichel aus, bald aber beruhigte sie sich, doch traten am selben Tage noch einige Male in kurzen Abständen die Anfälle auf. Am nächsten Tage war die Katze wieder ruhig, fraß, trank, erkannte ihren Besitzer und versuchte mit ihm zu spielen. Dieser vollkommen normale Zustand dauerte 10 Tage, während welcher die Kinder einer mäßig intensiven Impfung unterzogen wurden. — Dieselben reklamierten hierauf ihre Katze, welche wir nochmals untersuchten und vollkommen gesund fanden. Aber schon am nächsten Tage meldete man, daß die Wut von neuem ausgebrochen sei. Der Anfall dauerte ebenfalls mehrere Stunden, und wurde das Tier noch 14 Tage lang beobachtet während welcher Zeit am 6. Tage ein kleiner Anfall und 17 Tage später ein stärkerer, gefolgt von Lähmung, und der Tod eintrat.

Im Gehirn der Katze wurden Wutknötchen konstatiert und die Oblongata durch Trepanation einem Kaninchen eingeimpft, welches am 15. Tage an Wut verstarb.

Dies war der 1. Fall von remittierender Wut, und zwar bei einer Katze. Der 2., ebenfalls von Babes beobachtete, Fall betrifft einen Hund mit allen Zeichen der Hundswut, welcher in Craiova einen Gymnasialschüler, 2 andere Personen und mehrere Hunde gebissen hatte. Der Hund wurde in tierärztliche Beobachtung genommen. Schon am nächsten Tage verschwanden alle verdächtigen Symptome. Der Hund war ruhig, erkannte seinen Herrn, aß und trank, verlangte in Freiheit gelassen zu werden, zeigte keinerlei Neigung zu beißen, wurde noch 5 Tage eingeschlossen gehalten, am 6. Tage aber freigelassen und die Gebissenen nicht der Wutschutzbehandlung unterworfen, da der Hund für gesund erklärt war, und auch die gebissenen Hunde in Freiheit gesetzt. Allerdings hatte der gebissene Schüler eine leichte Bißwunde am Kopfe. Am 25. Tage nach dem 1. Wutanfall begann aber ein neuer Anfall, und der Hund biß noch 2 Personen, und zugleich zeigte auch der zuerst gebissene Gymnasialschüler den Beginn des Ausbruches der Wut.

Der Hund wurde nun getötet und sein Kopf zugleich mit den gebissenen Personen nach Bukarest geschickt. Am nächsten Tage starb der Schüler mit heftigen Wutsymptomen. Ein Kaninchen, das mit Gehirnsubstanz des Hundes durch Trepanation infiziert war, starb am 16. Tage an Wut. Es ist fast sicher anzunehmen, daß, wenn der an Hundswut gestorbene Knabe kurz nach dem Bisse in Behandlung genommen worden wäre, bei ihm die Hundswut nicht ausgebrochen wäre, wie diese ja bei den übrigen, zuletzt gebissenen, Personen, die geimpft wurden, auch nicht auftrat. Daß die 2 Personen, welche zugleich mit dem Schüler gebissen wurden, nicht erkrankten, hängt wohl damit zusammen, daß sie weniger stark und durch die Kleider gebissen worden waren.

Der 3. in unserem Institut vorgekommene Fall von intermittierender, prämonitorischer Wut betrifft wieder eine Katze, und zwar die unseres Portiers V. Popescu. Dieselbe wird am 31. 1. 1921 plötzlich wütend, beißt ihre Herrin am Gesicht und am linken Vorderarm. Außerdem wurde noch eine Laborantin gebissen. Nächsten Tages war die Katze wieder ruhig, erkennt ihre Herrin, frißt, trinkt. Die Behandlung der gebissenen Personen begann, aber nach 6 Tagen, nachdem sie gesehen hatten, daß die Katze sich normal verhielt, reklamierten sie dieselbe und wollten die Behandlung nicht fortsetzen. Die Katze wurde also befreit und blieb noch weitere 6 Tage vollkommen gesund. Erst am 12. Tage nach dem 1. Anfall erwachte sie nachts wütend, biß ihre Herrin an der Unterlippe, flüchtete sich dann auf die Möbel und auf die Röhren der Kalorifer bis zum Plafond, dann in die benachbarten Zimmer, biß noch eine Laborantin und fiel auf den Zementfußboden, wo sie tot liegen blieb.

Alle gebissenen Personen wurden von neuem geimpft und blieben gesund. Im Gehirn der Katze fanden wir Wutknötchen und zahlreiche Wutkörperchen (Negrische Körperchen). Ein mit Gehirnsubstanz infiziertes Kaninchen ging nach 14 Tagen an Wut ein.

Der von Herrmann (2) in seiner letzten Arbeit in diesem Centralblatt beschriebene Fall ist ein weiterer Beweis für die Infektiosität der Wut im Inkubationsstadium der Hundswut für den Menschen.

Es handelt sich um einen Hund, welcher, anscheinend gesund, ein Kalb am 14. 8. biß, dann nach 2 Wochen einen Burschen und dessen Vater. — 5 Wochen nachher biß er eine Frau. Nach etwa 10 Wochen erkrankte der Hund, welcher bisher gesund erschienen war, biß einen Taubstummen und starb nach 3 Tagen unter Wutsymptomen.

Das zuerst gebissene Kalb ging Ende Oktober an Wut ein und auch der am 15. 8. gebissene Bursche starb an Hundswut am 10. 10., also $2^1/_2$ Monate nach dem Bisse.

In einem anderen Fall wurde eine Person vom eigenen Kater am 30. 12. 1922 gebissen und gegratzt (2). Nach 3 Wochen war der Kater aufgeregt, nahm kein Futter, verkroch sich in dunkle Ecken und versuchte zu entlaufen. Abends beruhigte er sich. Am 9. 11. 1922 wiederholte sich der Anfall, der einen Tag dauerte.

Am 22. 11. trat wieder ein Anfall außerordentlicher Aufgeregtheit auf und der Kater wurde am nächsten Tage in das Institut von Odessa eingebracht. Im Käfig fing er zu fressen an und saß ruhig im Käfig. Nach 1½ Monat, am 17. 4., wurde er frei gelassen. Er war nervös und menschenscheu. Im November 1923 verschwand er. Man kann nicht behaupten, daß es sich beim Kater um natürliche Lyssa recurrens gehandelt hat, doch bringen die periodischen Anfälle von Aufgeregtheit, der Umstand, daß er sich überall verkroch, entlaufen wollte und zuletzt ganz verschwand, unwillkürlich auf den Gedanken, daß es sich um Lyssa recurrens gehandelt hat.

Wir möchten noch einen 3. Fall von Herrmann erwähnen, welcher aber kaum als beweisend bezeichnet werden kann.

Am 30. 11. 1922 wurde in das Odessaer Krankenhaus eine Frau gebracht, welche am nächsten Tag an Hydrophobie starb. Sie war als Magd bei Leuten angestellt, deren Hund sie gebissen hatte. Bald nach dem Bisse verließ sie den Dienst (wann, unbekannt), und da der Hund, als er sie biß, gesund zu sein schien, so hat sie sich weiter nicht um ihn gekümmert. Nach 7 Monaten starb sie an Wut.

Zaccaria hat angegeben, daß ein Hund einen anderen 13 Tage vor Beginn der Wutsymptome gebissen hätte. Beide Hunde erlagen danach der Wut.

Konradi (4) beschreibt einen ähnlichen Fall (in 11 Tagen) und auch Pampoulis (8 Tage).

Leider wurde auch in diesen Fällen die Temperatur der Hunde nicht gemessen.

Im „Traité de la rage", sowie in den Arbeiten von Herrmann werden auch unsere Untersuchungen über die Infektiosität des Speichels der Hunde im Inkubationsstadium der Wut, sowie auch während der prämonitorischen Symptome erwähnt.

Aus denselben geht hervor, daß manchmal der Geifer des Hundes nicht nur während des prämonitorischen Fiebers, sondern ausnahmsweise auch später infektiös sein kann.

Es fragt sich nun, ob diese Untersuchungen auch praktischen Wert haben. — V. Babes selbst hat im „Traité de la rage" und auch wir haben in unserer Mitteilung an die rumänische Akademie (9) folgende praktischen Ratschläge gegeben:

1) Nachdem unter vielen Tausenden von Menschen bisher bloß ein einziger Fall sicher und ein nicht ganz einwandsfreier 2. Fall beschrieben worden sind, in welchem von einem im prämonitorischen Anfall befindlichen Hunde beim Menschen Tollwut herbeigeführt wurde, könnten wir ohne wesentliche Veränderung bei unserem bisherigen Verfahren der Beobachtung des Tieres verbleiben, welches die Infektion des Menschen verursacht. — 2) Wir werden aber auf Grund irgendwelcher verdächtiger Symptome des beißenden Hundes auch bei ganz unbedeutenden Verletzungen und, auch wenn das beißende Tier am nächsten Tage oder nach wenigen Tagen völlig gesund erscheint, dennoch die Tötung des Hundes und eine Schutzimpfung von 6—8 Tagen empfehlen können. — 3) Da Impfschädigungen bei gebissenen Personen immer seltener zu verzeichnen sind und nach unserer Methode (V. Babes) der Selektion und speziellen Behandlung der prädisponierten Personen überhaupt vermeidbar sind, so kann heute die Tollwut-Impfung als unschädlich betrachtet werden, unter der Bedingung, daß die gebissenen Personen, welche für Impfschädigung, namentlich Paresen, prädisponiert sind (Kinder, Rekonvaleszenten, übermüdete Personen, Aerzte, Israeliten, nervöse schwächliche Frauen, Alkoholiker), mit bedeutend verdünntem Material, kombiniert mit der erwärmten Serie, oder einer anderen gründlich erprobten Methode geimpft werden.

Bibliographie.

1) Babes, V., Studien über die Wutkrankheit. (Virch. Arch. 1887.) — 2) Ders., Traité de la rage Paris 1912. — 3) Herrmann, V., Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 99. — 4) Ders., Mikrobiologie. Moskau 1924. (Russisch.) — 5) Konradi, D., Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 47; 68; 73. — 6) Löte, Ebenda. Bd. 39. — 7) Nicolas, I., Soc. Biol. 1906. p. 625. — 8) Pampoulis, Ann. Inst. Pasteur. 1900. — 9) Babes, V., u. Bobes, S., Bullet. Acad. Roumaine. 1921.

Sur la question du développement atypique des parasites de la tierce bénigne.

[De la clinique du Prof. Zimnitzky de l'Université à Kazan.]

Par le Dr. **G. J. Pérèkropoff.**

Avec 2 planches.

43 ans se sont écoulés depuis que Laveran a découvert les parasites du sang du paludisme; mais jusqu'à présent ces parasites ne sont pas assez étudiés pour pouvoir dire que nous les connaissons à fond.

Plusieurs phases de l'existence des parasites du paludisme dans le sang de l'homme restent encore indéchiffrables, malgré les travaux classiques de Grassi et Feletti (1890), Celli, Sanfelice (1891), Lewkowicz, Labbé. Les travaux de vivax de Golgi, Canalis, Guarnieri n'ont plus ni éclaircis, ni précisé le cycle du développement des parasites du paludisme. Ils n'ont qu'harmonisé et systématisé la doctrine de Laveran. De même les travaux de Richard, Vandik, James, Maurel, Councilman, Osler, Balli et d'autres ne nous expliquent point les variations dans l'existence des parasites de notre sang, ils n'ont qu'une fois de plus affirmé dans différents pays de l'univers les incitateurs réels du paludisme decouvert par Laveran. Depuis la découverte par Romanowsky de la coloration des parasites du paludisme, qui remplaça la manière précédente d'Ehrlich et de Weigert, qui ne donnait pas de tableaux exacts, leur origine bactérielle fut repudiée et naquit la conception qu'ils appartiennent aux parasites animals.

Bignami, Bastianelli, Haweston, Sakharoff, Metchnikoff, Golgi, Pappenheim, Welch, Rechetillo, Khenzinsky, Blanchard et d'autres expérimentateurs qui exécutaient leurs observations sur des parasites déjà colorés, nous signalèrent leur fine structure.

Il faut encore noter les travaux classiques de Marchiafava, Celli, Solmoni, Jancsó, Levi della Vida, Pezopulo, Cardamatis, Ziemann, Argutinsky qui nous indiquent que ces parasites microscopiques se distinguent les uns des autres non seulement par leur vue extérieure, mais encore par le temps de leur développement dans le sang de l'homme, les uns dans 48 heures, les autres dans 72.

Les auteurs ci-devant nommés de même que Manson, Cook, Stephenson, Maurel, Christophers, Plehn, Lühe, Argutinsky, Brumpt, Delille, Paisseau, Carnot, Silberstein, Grall, Marchoux, Clarac, Mac Wolter, Lawson, Stein, Abrami, Souillé, Lémaire, Jeanselme et d'autres sans nombre nous indiquèrent les particularités morphologiques de chaque des trois espèces des hématozoaires de notre sang.

C'est Ronald Ross par ses travaux expérimentaux qui découvrit dans le cycle du développement des parasites — l'homme sert d'intermédiaire, dans le sang duquel se fait leur schizogonie, le cycle séxuel de leur développement se passe dans l'estomac du moustique du genre Anophèles, ces parasites se transmettent par la piqûre de ces insectes venant de leurs glandes salivaires.

R. Koch, Pfeiffer, Manson, Carducci, Bignami, Dionisi, Schoos, Raptchewsky, Swellengrebel, Mendini, Grassi, Marchoux

confirmèrent les travaux expérimentaux de Ross sur les moustiques comme transmetteurs de cette maladie. En même temps ils nient l'impossibilité, qu'ont les autres insectes, qui piquent aussi, de transmettre ces parasites pathogènes dans les érythrocytes de l'homme. Il est vrai que les travaux expérimentaux de Sakharoff. Abramoff, Ziemann et d'autres ont constaté que dans l'estomac de la sangsue, du pou, de la punaise et du moustique Culex ces parasites restent vivants quelque temps, mais ils n'ont pu constater que ces parasites furent transmis par la piqûre ou si même cela a eu lieu les cas étaient si peu témoignés qu'ils ont été rejetés par la plupart des observateurs.

Guarnieri, Dochman, Carducci, Ross, Mühlens et d'autres auteurs nous indiquèrent que le répiquage des vésicules herpétiques, le transbordement des moustiques qui ont sucé le sang des malades, aux personnes bienportantes la transfusion du sang contenant des parasites du paludisme à ceux qui n'ont pas souffert du paludisme, donnent les même parasites, précisément ceux qui se trouvaient dans la matière avant le répiquage.

Les travaux classiques de Schaudinn fixèrent le mécanisme de la pénétration des sporozoïtes, obtenus des glandes salivaires des moustiques dans les globules rouges du sang de l'homme et leur développement dans les érythrocytes.

Christophers, Plehn, Lühe et d'autres nous font part de leurs observations sur la pénétration de jeunes parasites-mérozoïtes provenus de la division des plasmodies pendant leur développement schizogonique dans le sang des malades atteints de paludisme, dans les érythrocytes du sang.

Les recherches minutieuses des auteurs ci-devant nommés et une quantité sans nombre d'autres travaux postérieurs, prouvèrent l'erreur du point de vue unitaire sur l'unité de tous les parasites du paludisme provenant les uns des autres. Ce point de vue unitaire fondé par Laveran créateur de l'étude du paludisme, a été ébranlé par les travaux de Bass, Johns, Coronado, Thompson, Mac Lellan, Swellengrebel, Dudgeon, Clark, Ziemann, Hamburger, Joukoff, Gourko, Pitchougin, les miens et de Joffé qui montrèrent que pendant la cultivation artificielle des plasmodies du paludisme dans les autocultures ne subsistent, se développent et périscent que les parasites qui se trouvaient primairement dans le sang humain pris pour l'ensemencement.

Pas un de ces auteurs n'observa la transition d'une espèce de parasite à l'autre, excepté leur conservation temporaire, mutation, dégénération et ruine. Ces travaux fixèrent plus strictement les trois genres essentiels de parasites.

Hartmann, Jollos, Prowazek, Doflein, Schilling, Danilewsky, Berenberg, Lühe et d'autres prouvèrent que les parasites du paludisme de l'homme appartiennent aux protozoaires, par leur développement phylogénétique à la classe Flagellata et à la famille Binucleata.

Tous ces auteurs ont étudié et détaillé la vie de ces parasites du sang humain, leur morphologie et les singularités de chaque espèce, mais pourtant pas assez pour pouvoir dire que la biologie de ces parasites du paludisme et l'étude sur cette question soit terminée.

Il est clair maintenant que les bacilles du paratyphus A et B ne sont pas l'unique élément capable de produire la fièvre typhoïde. Il est bien connu maintenant qu'il existe entre les b. coli et la bacille d'Ebert toute une rangée d'espèces de la même famille, ayant la même propriété, et que ces microbes peuvent être divisés en groupes se rapprochant par leur vue et d'autres particularités aux bactéries coli, aux bacilles de paratyphus A et B et aux bacilles d'Ebert.

Bignami, Mannaberg, les frères Sergent, Stephenson, Catanei, Achmed Emin, Christophers, Marchoux, Cook, Panse, Blanchard, Balfour, Wenyon, Beguet, Plantier, Archibald, Billet, Stephens indiquèrent les particularités dans le développement des parasites du paludisme et conclurent qu'il existe, excepté ces trois espèces, encore des variétés, ce dont je parle dans mon travail sur l'accroissement artificiel des parasites du paludisme tropique.

La connaissance que nous avons sur les parasites du paludisme

nous donne le droit de les classifier d'après leur ressemblance et de les diviser en trois espèces précisées:

1) Plasmodium falciparum (tropica), 2) P. vivax (tertiana) et 3) P. malariae (quartana).

Dans chaque de ces types, on peut, en les détaillant du point de vue morphologique, trouver plusieurs variétés.

Ainsi une grande variété se fait sentir entre les Plasmodium falciparum de la côte de l'est de l'Afrique et les mêmes parasites du sud de l'Italie et en Macédoine; le nombre des schizontes dans le premier cas est toujours médiocore et multiplié dans le second. Les gamètes de la côte de l'est de l'Afrique sont ovales, tandis qu'en Italie et aux Saloniques elles ont la forme de demi-lune très prononcée. Les gamètes de cette même espèce en Indo-Chine représentent pour ainsi dire le type transitoire entre les espèces africaines et européennes. Les parasites qui se rencontrent sur le continent de la Grèce se distinguent nettement des mêmes des autres pays. Les parasites de quartana du nord de l'Afrique se distinguent un peu des mêmes de l'Europe. Oswald Cruz en a trouvé encore une variété sur les bords de l'Amazone. Craig distingue encore une espèce spéciale de Plasmodium falciparum quotidianum. Marzinowsky décrit Plasmodium falciparum caucasicum. Viallatte rencontra au Maroc et en France des formes atypiques de Plasmodium falciparum et Plasmodium vivax qui se distinguaient des mêmes du nord de l'Afrique; les dernières espèces de ces parasites sont incomparables aux espèces rencontrées au Cap Verde et sur l'Amazone. Stephens nomma une espèce spéciale du parasite tenue qui ne se confond pas avec Plasmodium falciparum. Achmed Emin décriva une variété minutum représentant des symptômes spécials et caractéristiques dans le développement des parasites, ne ressemblant point à ceux décrits dans les travaux classiques. Billet et Grall indiquèrent un stade spécial du développement des schizontes de quartana ressemblant à hémogrégarine. (J'ai observé ces parasites dans les cultures de quartana.) Balfour et Wenyon notèrent dans les parasites de tertiana une nouvelle espèce de Plasmodium vivax.

Tous ces cas énumérés et les multiples témoignages de différents auteurs nous donnent le droit de soupçonner et de fixer l'existence de plusieurs variétés de plasmodium du paludisme, qui peuvent être réunis autour d'un des trois types fondamentales. Ces variétés ne peuvent se confondre les unes avec les autres et peuvent dès fois se distinguer les unes des autres d'une manière très prononcée. Pourtant je ne tiens pas le parti de la plupart des auteurs qui ont décrit la variété d'une des espèces de parasites; je suis plutôt disposé de les croire des moutants, formés sous l'influence de divers causes et conditions de leur vie. Dans mon travail de la tertiana du type quartane j'ai mentionné que l'accommodation des parasites varie éminément et leurs formes se changent dépendant des conditions de leur vie. (Ce qui se remarque souvent dans les auto-cultures de ces parasites.) Les théories qui défendent chaque variété du point de vue de la réaction de l'immunité comme par ex.: les nègres du Sénégal qui ne sont pas soumis à l'infection dans leur patrie tombent malades ua Dahomée. De même ils sont moins exposés à la maladie sur les côtes du Sénégal que dans le fond du pays. Ces exemples ne me persuadent pas, ou que le changement d'endroit et de condition de vie de l'homme — hôte — peut également agir sur

la vie des parasites, ce qu'on remarque souvent lorsque les malades changent de résidence. Ce qui se fait remarquer très distinctement par l'épidémie passée à Kazan (Russie). Je connais des personnes malades des dizaines d'années qui étaient atteints du paludisme 8—10—12 ans et qui se sentaient néanmoins tout à fait bienportantes (malgré maintes autres maladies et même accidents) et qui en 1922—23 ont été de nouveau exposées à l'infection.

Jusqu'à présent la question de l'immunité du paludisme reste ouverte et si l'immunité existe, comme en parle la littérature, elle n'est point complète et ne stérilise point l'organisme, comme d'ailleurs dans toutes maladies à protozoaires. On peut supposer que les variétés surgissent du croisement des formes fondamentales des parasites, lors d'une double et même triple infection du sang, mais cette supposition réclame encore des recherches expérimentales. Il est vrai qu'il existe dans la littérature le travail de Swellengrebel qui traite des 3 espèces fondamentales inconfondables des parasites du paludisme dans l'estomac de l'Anopheles et que déjà d'après les oocystes qui se développent sur les côtes de l'estomac, il est possible de discerner l'espèce des futurs parasites. De même la modification des parasites dans d'autres insectes qui piquent, comme le supposent Plehn, Manson etc., nous donnera peut-être l'explication du caractère et la variété des plasmodium.

Ni dans les travaux classiques de Golgi, Marchiafava, Bignami, Celli, Ziemann, Mannaberg, ni dans d'autres auteurs postérieurs de la littérature qui m'est accessible, je n'ai trouvé d'indications sur le développement des parasites de tertiana, que j'ai rencontrés chez le malade Ch. Il est vrai, qu'il est mentionné dans la littérature (Raymond et Grisez, Presse méd. No. 50. 1917) d'un développement original des plasmodium de tertiana ressemblant au stade grégarien, mais la description détaillée morphologique manque. Je n'ai jamais rencontré pendant onze années, même dans les cultures, telle espèce de parasites vivax que j'ai trouvé dans le sang du malade Ch. au printemps de l'an 1923. Jusqu'à lors j'ai rencontré la forme de tertiana ordinaire, c'est pourquoi je me sens obligé de les décrire.

Le malade chez lequel je trouvai cette forme de parasite s'adressa à l'ambulation de la clinique au mois de janvier 1923 se plaignant de malaria. Il revint de nouveau le 5. 6. avec des symptômes d'aggravement. Ch. nous expliqua qu'il est tombé malade à Bukhara au mois de juillet 1922, où il servait au brigade de cavalerie de Kazan. Au commencement de la maladie, l'infection n'est pas le caractère régulier et classique. Les accès de maladie étaient accompagnés d'une température constante pendant 3—4 jours, ensuite elle tomba avec un affaiblissement de forces et une forte sueur. Puis vint la période d'apyrexie, pendant 8—10—14 jours, après quoi l'accès recommença avec la même vigueur donnant le même tableau clinique qu'auparavant. Pendant les jours d'apyrexie le malade ne se sentait pourtant point bienportant. Il souffrait de mal de tête, de somnolence, perte de forces et une température élevée 37,2°, 37,5°, rarement 38° C. Après le troisième accés de fièvre Ch. fut quinisé à Bukhara pendant trois jours; quinisation organisée par le gouvernement (quinisation d'état). Les doses furent grandes; et après ce que dit le malade cette quinisation fut appliquée à tous pendant 3 jours. On donnait une cuillère à thé quotidiennement après quoi les accès cessèrent; après un mois l'accès recommença et cette fois les accès avaient le caratère classique se répétant chaque deux jours et au bout de six jours devinrent quotidiens. A l'ambulance locale de Bukhara le malade recevait de la quinine en poudre à 0,3 une fois par jour pendant 18 jours, après quoi la maladie s'appaisa lentement. Le 18. 9. elle recommança, mais les accès n'étaient plus accompagnés de frissons et se terminèrent par d'abondantes sueurs. La maladie trainit en longueur et prit un caractère plus grave. Ch. fut envoyé par la commission à Kazan pour se traiter où il arriva

au commencement du mois de janvier 1922. À Kazan à l'ambulance des cours de cavalerie il subit 4 injections de quinine dans les veines après quoi les accès du paludisme cessèrent jusqu'au 27. 11. Le 27. 11. ce fut un rechute. Le malade commença à souffrir de cachéxie. Vu la forme grave du paludisme, l'énorme enflement de la rate, la maladie du foie et le développement de la cachéxie, Ch. fut libéré du service militaire. Étant sans moyen, il ne pouvait se traiter lui-même, souffrant perpétuellement de la température élevée et de cachéxie commençante — il fut placé le 5. 6. 23 à la clinique.

Ch. V. V. — étudiant de l'Institut agricol, de 21 ans, de taille moyenne, couche de graisse sous-cutane peu développée, teint jaune et terreux. Les membranes muqueuses pâles, anémiques. Le tissu cellulaire sous-cutane, des paupières, de la plante, des pieds, des jambes oedémateux.

La rate déborde de l'arc costale de $9^1/_2$ cm. Elle est solide, compacte point douloureuse à la palpation, mobile et proportionellement aggrandi. Le foie aggrandi de 3 cm, compact et point douloureux au tâtonnement. Pouls rythmique d'emplusion moyenne. Le coeur anémique, bruits. Dans les poumons des râlements répraudus et secs. Dans l'urine une quantité médiocre d'urobiline, point d'albumine. L'analyse du sang donne: hémoglobine 65 %, L = 4640, E = 2 800 000, beaucoup de corps au demi-lune, polychromatophilie très prononcé, normoblastes. Dans la formule leucocytaire se marque l'augmentation de mononucleaires, quelque peu d'éosinophiles, des myélocytes rarement rencontrés, une quantité amoindrie de plaquettes de Bizzozero d'une grandeur considérable. L'analyse de sang, prise le 6. 6. (avant de quinine) donna un grand nombre de parasites dans différents stades de développement dès le stade de mérozoïtes libres, leur mérulation jusqu'au développement complet des gamètas. De même il y avait dans le sang du malade un grand nombre de formes dégénérées des parasites. Le premiers regards fugifs jetés sur les frottis du sang, colorés par la méthode Romanovsky-Giemsa, montrèrent que c'étaient des parasites du Pl. vivax, mais d'un développement atypique. Les érythrocytes contenant des parasites sont quelque peu aggrandies, la granulation de Schüffner très prononcée, peu décolorées excepté ceux contenant les formes en division. Le sommaire des parasites montra que les formes atypiques des parasites (indiqués sur les planches) formaient 45,5 %; les formes de tertiana typiques 21,2 %, des formes atypiques (les formes transitoires entre celles typiques et celles atypiques) formaient 15,3 %, le reste en somme de 15 % représentait tous les stades transitoires de leur dégénération. Le sang fut pris lorsque la température du malade était à 39,6°.

Le sommaire des parasites par champs visuels (sur 1000 champs visuels du frottis) en rapport aux érythrocytes, c'est-à-dire sur 80 000 à 100 000 de globules rouges se trouvaient: mérozoïtes 0,5 %, de formes annulaires de parasite 18,6 %, de mêmes améboïdes petits 16 %, de grandes formes mûres de schizontes 14,3 %, de schizontes et gamètes 14 % et de formes dégénerées 15,3 %, le commencement de la division (c'est-à-dire l'ameublement du chromatine dans les parasites avant la formation des futurs noyaux des parasites vivax) 19,3 %.

Comme j'ai déjà cité, les frottis du sang donnèrent le tableau de parasite du paludisme qui se différait distinctement des Haematozoon vivax, décrit en 1890 par Grassi et Feletti, et de ceux décrits plus tard par d'autres auteurs. Ainsi les mérozoïtes dans les frottis du sang coloré étaient ou ovales ou ovulaires (fig. 1—2; la grandeur est grossie d'une fois et demie en comparaison avec la réelle), ou bien de forme irrégulière avec chromatine bacillaire — de forme quadrangulaire irrégulière avec bords arrondis. Rarement les mérozoïtes étaient ronds, comme ils ce sont dans les cas de tertiana typique.

Quelques mérozoïtes laissaient voir clairement la zone achromatique entourant le noyau. La forme du noyau dans la plupart des cas était d'une courte forme bacillaire irrégulière placée à la périphérie des mérozoïtes, dont une partie se colorait plus intensement que le reste du chromatine. Le rapport du chromatine au protoplasme du parasite

s'expressait comme 1:3:4. Les noyaux se coloraient très bien en carmine-rouge, le protoplasme en bleu pâle. Les jeunes formes de schizontes déjà attachés aux érythrocytes (fig. 3, 4, 5) étaient de forme ovale (fig. 3—5) ou de forme annulaire régulière (fig. 4). La grandeur de ces parasites égalait $^1/_4$—$^1/_5$—$^1/_6$ du diamètre d'un érythrocyte normal. Ces derniers marquaient visiblement la granulation de Schüffner. Le protoplasme de tel mérozoïte se colorait assez bien en bleu pâle et s'offrait en guise d'anneau d'épaisseur proportionnée (fig. 4) ou en anneau agrandi et elargi du côté opposé du chromatine. Dans ces schizontes la zone achromatique est très distincte. Le chromatine était de forme irrégulière, formé en de deux grains reliés par de courts fils de chromatine (fig. 3—5) ou en guise de bâton granulaire, formant comme la moitié de l'anneau du protoplasme. Le chromatine n'est point compact, comme d'ordinaire rencontré chez les vivax, il est quoique peu ameublé et consiste souvent en grains ou en courts fils irréguliers. Les globules rouges contenant des parasites étaient élargis, mais plus grands que quand elles contiennent des parasites du type tertiana, quartana du même âge que ces parasites.

Les parasites qui ont atteint $^2/_3$—$^1/_2$ de la grandeur d'érythrocyte (fig. 7, 8, 9) changent la forme annulaire, tandis que le protoplasme qui était vis à vis de la masse de chromatine, peu à peu s'étend et tout le parasite prend la forme d'un filet à papillons. La zone achromatique de tels parasites est assez grande et le chromatine se place au milieu. Le bloc de chromatine était de forme angulaire irrégulière ou en forme de bâton courbé et point compact, consistait comme en grains séparés reunis de fils de chromatine. À cette époque des parasites le chromatine s'ameublait encore plus et donnait l'impression de partage précoce. Le chromatine se colorait en carmine rouge et le protoplasme en bleu pâle assez bien. Les érythrocytes, contenant des parasites marquaient la granulation de Schüffner et étaient visiblement agrandis.

Pendant l'ultérieure croissance des parasites leur forme s'agrandit en masse — c'est-à-dire la zone achromatique s'agrandit, le protoplasme s'étire en longueur et prend la forme d'un long sac étroit; le chromatine dans de tels parasites atteint la grandeur (fig. 10, 11, 12) de $^2/_3$—$^5/_6$ du diamètre d'érythrocytes. Le chromatine de tels parasites ou se divisait précocement (fig. 11, 12) ou se représentait en forme d'anneau (fig. 10) avec élargissement des deux côtés opposés.

Le chromatine dans les deux premières espèces de parasite consiste de grains séparés de forme irrégulière on de bâtons allongés; il est ameublé et les grains sont unis par une masse ameublée de chromatine.

Les masses de chromatine se trouvaient ou au milieu de la zone achromatique ou à la periphérie comme chez les parasites du stade précédent de leur développement. Tandis que dans les stades précédents du développement dans les parasites (fig. 7, 8, 8) le rapport du chromatine à la masse du plasme s'exprimait comme 1:5:10, dans les derniers cas le rapport s'exprimera comme 1:8:12. À ce stade des parasites apparaissait déjà le pigment dans le plasme, qui se localisait dans le plasme du côté opposé au chromatine.

Le pigment était d'une couleur d'or jaunâtre pâle consistant en petits grains de différentes grandeurs. En comparaison avec la quantité de pigment des parasites vivax de Grassi et Feletti à ce

même âge, la quantité de parasites de ceux-ci était très resteinte. Les granulation de Schüffner prenait un caractère plus prononcé. Déjà érythrocytes s'agrandissaient encore plus, pâlissaient visiblement et la dans ce stade quelques formes de parasites donnaient l'impression d'un ruban court, ayant la zone achromatique à un bout avec le chromatine au milieu et un assemblement de pigment délicat à l'autre. Dans le stade ultérieur du développement des schizontes ils prennent déjà le caractère précis (fig. 14, 13, 15, 16, 17) d'un ruban long et étroit. Cette forme de ruban des parasites se conserve jusqu'à leur division, c'est-à-dire jusqu'à la formation des schizontes. Dans ce stade d'accroissement les parasites, en comparaison avec le précédent, grandissaient très peu, mais ils avaient déjà la forme précise de ruban et souvent même faisaient des courbures (fig. 13, 14, 16). La zone achromatique ne changait point de grandeur, chez d'autres elle grandit même en comparaison avec le stade précédent du développement des hématozoaires. Leur chromatine était placé de même au milieu de la zone achromatique, seulement il différenciait déjà clairement en petits monceaux éparsnoyaux de futurs parasites. La division du chromatine en deux se nota comme „successive Zweiteilung" (fig 16, 14, 15) ou bien le délassement du chromatine de la masse entière prit place (fig. 14). Les grains épars du chromatine sont ameublés, se coloraient assez bien et dans quelques des parasites se faisait remarquer une partie plus compacte de chromatine qui se colorait plus intensement que le reste. Un certain nombre de noyaux étaient encore unis par de petits ponts de masse chromatine, qui formait ou de courts bâtons ou des grains de différentes grandeurs et épaisseurs ou bien de fils courbés de protoplasme pendant la différenciation du chromatine en noyaux separés restait sans changement, il ne devenait que plus compact et gagnait une couleur plus intense (fig. 14, 15, 16).

La quantité de grains de chromatine (noyaux) épars des parasites ne surpassait pas le nombre de 6—10. La grandeur des parasites, dans ce stade de leur développement acquérissait la grandeur du diamètre d'érythrocytes élargi, en rares cas même, en étendant mentalement le ruban plié du plasme, la grandeur des parasites peut même surpasser le diamètre du globule rouge presque doublement. Le rapport des masses de chromatine (prise ensemble) au plasme du parasite égale le rapport de 1:7:10:11. Le pigment de couleur jaune doré, en forme de petites parcelles semées ça et là dans le plasme est plus souvent localisé dans un bout du ruban plasmatique (fig. 14, 16) opposé aux masses de chromatine. La division de tels schizontes est assez rapide et au moment de la formation des mérozoïtes détachés se laissait voir assez souvent comme un délassement du protoplasme près de l'ex-zone achromatique, ne touchant point le reste de sa masse (fig. 17). Il se trouvait souvent dans le plasme du sang des noyaux détachés dépourvus de plasme ou avec un bord à peine visible de couleur bleu-pâle—plasme de futurs parasites bien formés. Les noyaux de chromatine, lorsqu'ils n'étaient pas encore détachés de la cellule maternelle, représentaient une forme irrégulièrement ébréchée, ovale ou ronde, ayant une partie plus compacte qui se colorait plus intensement en carmine foncée. Les noyaux étaient de grandeur d'un $1/2$ à 1 μ. Le protoplasme du parasite qui se divise était d'une couleur plus foncée et parsemé de petits grains pigmentaires non plus jaune-dorés, mais bruns.

Je n'ai point rencontré dans le sang d'autres formes de division des

schizontes rappelant de plus près la division classique des parasites vivax. Les érythrocytes contenant des parasites à forme de ruban pâlissaient vite, s'élargissaient d'une et une fois et demie de plus que la grandeur d'un globule rouge normal. Dans les mêmes frottis de sang contenant les schizontes vivax ci-devant nommés se trouvaient leurs formes atypiques (fig. 18—37). Ces formes atypiques de parasites que j'ai observées représentaient d'assez bizarres formes ne ressemblant point du tout au Plasmodium vivax de Grassi et Feletti et rappelant quelque peu le prolongement du développement de schizontes du type tenue décrit par Stephens. Le protoplasme de tels schizontes se représentait comme raies (fig. 20), rubans (fig. 21, 23, 24, 25, 33) ou bien encore en guise de lambeaux de forme et de dessin irréguliers (fig. 28, 34, 35). D'après le protoplasme des uns des parasites il est possible de fixer leur certaine ressemblance au type fondamental de schizontes de vivax (fig. 23, 22, 25, 30, 34, 35), chez d'autres il est tout à fait impossible de le comparer à nulle forme de parasites.

Ainsi les uns des parasites (fig. 22, 23, 24, 25, 30, 34, 35) ressemblaient en groupe précédent seulement par la zone achromatique du plasme, le reste des formes était comme des formes indépendantes de schizontes et très ressemblantes aux schizontes décrites par Catanei comme formes atypiques de Plasmodium vivax. L'assemblement de chromatine en forme très bizarre analogue aux formes bizarres du plasme de quelques des parasites de forme atypique des schizontes est très caractéristique pour cette espèce.

Le chromatine de tels schizontes était ou en guise de court bâton courbé avec une quantité très minimale de plasme (fig. 10) ou bien en forme de même bâton, mais placé latéralement du plasme distinctement exprimé avec un soupçon de zone achromatique allongée. Tout le parasite en ces cas représentait comme la forme primaire des schizontes atypiques de ruban, décrit par Beguet et Plantier. Les bâtons de chromatine de ces parasites n'étaient point homogènes, mais étaient dans la plupart des cas granulaires ou paraissaient avoir deux contours. D'autres parasites n'avaient pas le chromatine bacillaire droit, comme celui des formes précédentes de schizontes, mais il était courbé et consistait en plusieurs petits bâtons courts unis, et toute la masse de chromatine était formée de plusieurs de ces bâtons unis et faisait des amassements de chromatine d'assez bizarre forme (fig. 21—32). Chez d'autres le chromatine des parasites fait un conglomérat de courts bâtons non allignés, mais assemblés en cercle complet (fig. 30) ou demi-cercle (fig. 24, 27, 31). Le chromatine de telles formes atypiques des parasites n'était plus en forme de bâton; il consistait en grains réunis par des ponts de substance chromatine (fig. 23, 28, 29, 34, 35). Certains schizontes semblaient avoir 2 noyaux chromatiques (fig. 25, 33), d'autres (fig. 18, 20, 33) étaient comme entourés de zone achromatique et certains parasites semblaient n'en avoir pas le soupçon. Il faut noter qu'en comparaison avec la quantité minimale du plasme, les noyaux des parasites étaient assez puissantes, la division commençait tôt, même dans les jeunes stades de développement des schizontes atypiques l'ameublement se fait remarquer (fig. 19, 21, 34 et surtout 35). Le fait de la division du chromatine des parasites donne le droit de supposer la division rapide et prématurée, même la formation précipitée et sans système de futurs jeunes individus, qui dans la plupart des cas se for-

ment non par la mérulation, mais par le délassement. Ils sont pourvus d'une quantité minimale de protoplasme (fig. 19 et 36).

Ces formes bizarres et atypiques du chromatine nous donnent le droit de dire que cette division de chromatine est celle qui prend place seulement dans les formes ataviques interno-cellulaires des parasites et d'après cela nous pouvons constater le fait de dégénération des parasites ou bien leurs mutations sous l'influence de causes encore inconnues.

Incontestablement cette division prématurée des parasites ne diminuait point la quantité de parasites dans le sang du malade, indiquait au contraire leur accroissement intense, la formation de nouveaux individus et la forme grave; ce fait indiquait que les jeunes formes des parasites déformaient très tôt les érythrocytes qui recevaient très vite la granulation de Schüffner (fig. 20), pâlissaient rapidement; toutes ces déformations d'érythrocytes se marquaient vivement lorsque les parasites atteignaient la grandeur environ $^1/_2$—$^2/_3$ du diamètre de l'érythrocyte.

Ce n'est que d'après cette granulation jaspée et l'ameublement de leur chromatine qu'il est possible des fois de fixer l'âge du parasite. Le chromatine de tels schizontes atypiques se trouvait au bord de leur plasme de forme bizarre (fig. 23, 32, 33) ou il était parsemé le long de tout le corps du parasite, si ce dernier était assez grand (fig. 29, 30, 31). Le chromatine de tels schizontes était de couleur plus foncé que celui du groupe précédent des agamontes et de forme plus grossière à grains de différentes grandeurs. En général la description exacte des formes atypiques des parasites est difficile, les figures des planches ci-jointes donneront un effet démonstratif de la structure des parasites. Les dessins donnent les formes typiques, ne donnant point les stades transitoires aux parasites vivax normaux décrits par Grassi et Feletti. Le développement des formes sexuelles du parasite, des microgamètes, diffère aussi du développement typique de tertiana simplex (fig. 37—47). Les mérozoïtes du rang des gamètes (fig. 37) de forme ronde, ovale, plus souvent ovulaire ont un, souvent 2 noyaux qui se colorent l'un plus intensément en rouge, l'autre moins vivement. Les deux blocs de chromatine sont ou ronds ou de forme angulaire irrégulière. Le plasme des mérozoïtes du rang des gamètes se teint d'une couleur plus foncée que celui des agamontes (fig. 1—2). Leur grandeur est presque égale à celle des mérozoïtes du type asexuel de parasites, néanmoins elle est égale $^1/_6$—$^1/_7$ du diamètre d'un érythrocyte. Le rapport de la masse de leur chromatine au plasme égale 1:4:5. Après leur pénétration dans les érythrocytes (fig. 38 et 39) ils s'élargissent „en masse“, conservant leur forme primordiale-ovale ou ovulaire, et acquérissent une teinte plus foncée du plasme. Dans les jeunes stades ils avaient 2 noyaux (fig. 38), dans les stades plus mûrs leur ameublement se faisait remarquer. La zone achromatique des uns des parasites du rang des gamètes se laisse voir clairement (fig. 40), chez d'autres elle manquait presque. Dès que le parasite atteignait la grandeur de $^2/_3$ d'un érythrocyte, le délassement du chromatine se marquait visiblement. Le pigment dans le plasme du parasite à ce moment était encore absent et ne paraissait que beaucoup plus tard. À ce moment de leur développement le noyau se composait de 3—4 grains épars réunis par des fils de chromatine de différente longueur et épaisseur, mais en somme ces fils et bâtons étaient assez courts.

La motion amoeboïde chez ce type de parasites ne se fait presque pas remarquer. Dès que les microgamètes sont de la grandeur de $^3/_4$ du globule rouge, le stade de la formation des fils se marque distinctement (fig. 41, 42) et des figures étoilées, après quoi le chromatine se plissait (fig. 45), les noyaux des futurs mérozoïtes (fig. 44) s'ensinuaient.

Pendaant le développement du stade de la formation des noyaux épars du parasite (fig. 42—44) la cellule maternelle du parasite acquit la grandeur égale presque à celle du globule rouge qui ne formait plus qu'un petit bord. Le protoplasme de telles gamètes, s'élargissait et se colorait intensement en bleu foncé. Dès le commencement de la formation des figures étoilées du chromatine, le parasite gagnait déjà le pigment qui au contraire du type vivax normal consistait plus souvent en grains de différentes grandeurs, de forme irréguliers, mais point de bâtons. La couleur du pigment était brun plus foncée que celles des mérozoïtes et était parsemé dans tout le plasme du parasite. La quantité des morceaux de chromatine ameublé, futurs noyaux des jeunes parasites, médiairement était égale 12 (de 8 à 16). Les noyaux nouvellement formés étaient ou compactes (fig. 45) ou comme quelque peu ameublés et entourés à la périphérie de la solide masse centrale (petits brèchements fig. 46). Le protoplasme au commencement de la formation des noyaux ne subit point de changement (fig. 45), mais ensuite il donne une ligne ondée à la périphérie et revêtait les parties périphériques des noyaux lors de leur stade de séparation. Le développement du protoplasme était tel que dans les cas typiques de tertiana et le reste des parasites du paludisme. Le pigment qui d'abord était parsemé par tout le plasme du parasite au moment de la séparation des noyaux fut rejetté ou au centre ou à l'une des parties périphériques de la cellule maternelle (fig. 46—47). Les noyaux des mérozoïtes nouvellement formés (fig. 46), mais pas encore séparés du plasme, sont entourés d'une distincte zone achromatique qui était quelque peu voilée dans les mérozoïtes déjà séparés, mais encore fixés dans les érythrocytes. Les mérozoïtes déjà prêts à sortir des érythrocytes étaient de forme ou ronde ou ovale, leur chromatine n'était point compacte, il avait l'air d'un anneau renfermé ou d'un mi-anneau avec grossissement d'un côté, qui se colorait en carmine-rouge, tandis que le reste restait plus pâle. La formation complète des mérozoïtes ne se passait pas toujours simultanément et souvent ils se laissaient voir (fig. 48) encore liés à leur commune cellule maternelle, tandis que d'autres étaient déjà complètement libres. Les érythrocytes s'élargissaient considérablement au moment de la formation des formes étoilées de la division, ils atteignaient la grandeur d'une fois et demi et même double de la normale. Au moment de la séparation des mérozoïtes ils pâlissaient rapidement, gagnaient une fine granulation très prononcée de Schüffner, qui seule indiquait l'ex-érythrocyte. Le nombre des mérozoïtes nouvellement formés variait de 8 à 16. Les microgamétocytes (fig. 48) se coloraient bien, aussi avaient-elles un pigment granulaire plus grossier parsemé ou dans tout le plasme ou plus souvent amassé à la périphérie. Les noyaux de microgamètes étaient granulaires, point compactes et étaient placées comme chez les autres espèces de Plasmodium au centre de la cellule de la microgamète. Il se trouvait dans le sang une quantité plus minimale que de macrogamètes. Le sort des érythrocytes contenant des micro-

gamètes est le même que celui des érythrocytes contenant des macrogamètes. Le cycle du développement des parasites dure 2—48 heures.

De cette manière par la la description des parasites et encore plus par la vue des planches de dessins, il est possible de supposer que ces parasites représentaient une variété indépendante, s'il n'y avait pas dans les frottis de sang des formes typiques des parasites vivax. Chez les parasites que j'observais il n'existait presque pas de mérulation régulière, j'ai vu la différentiation des noyaux dans le plasme du parasite déjà dans le stade amoeboïde. La plupart des parasites amoeboïdes marquaient peu le penchant de rester tranquilles, ils ne prennent pas des formes ovales ou rondes, comme chez les vivax par l'élargissement du plasme, mais tout en restant au stade animé de la vie amoeboïde ils commencent la division du chromatine, même lors que l'union du noyau avec le plasme est encore très faible. Les noyaux des parasites de tertiana, quartana et tropica avant la division prenaient une forme et coloration plus délicat, tandis que les parasites que j'observais n'arrêtaient point, dans aucun des stades, la division commencée. Stein et Ziemann indiquèrent déjà que le délassement des noyaux peut se produire dans les jeunes stades de parasites, mais ils ne détaillèrent point la signification de ce phénomène.

D'après mes observations, les noyaux déjà dans les jeunes stades de parasites montrent une tendance à la division et le commencement dans des stades relativement jeunes de leur développement, parfois même avant la formation du pigment dans le plasme, et dans le stade amoeboïde de leur vie. Les jeunes noyaux se délassent tôt de la masse de chromatine, tandis que le corps du parasite, sa cytoplasme, reste non divisé, ce qui est d'accord avec les données de Hertwig et Celli qui disent que „la division des parasites peut prendre place dans n'importe quel stade de leur vie", malgré que les auteurs postuaires ne leur attribuent la mérulation normale que dans les stades mûrs. Je me sens incliné d'expliquer cette division de parasites comme atypique, surtout leur mérulation hâtée, sans système, et je suppose que la division est de caractère dégénératif et nullement normale, puis qu'elle commence déjà dans les jeunes stades de la vie des parasites. Dans le développement régulier des parasites il existe toujours la division classique. Il est certain que les parasites peuvent non seulement subir des mutations sous l'influence et le changement des rapports de leur vie, mais qu'ils peuvent même ne point donner d'indication sur leur forme primaire dont ils issuent. La présence de dégénération qui prend place chez les parasites observés du type vivax répète sans doute leur phylogénie. Ainsi par exemple: quelques parasites, comme la Leishmania, dont l'organisme mûr représente un protozoaire flagellé dans la cellule de la punaise Cimex, qui dans l'homme — hôte secondaire — perd ses organes de mouvement apparaissant comme parasite intercellulaire. Le même effet produit l'Haemoproteus, qui étant sous forme libre de haute différentiation, devenant parasite intercellulaire flagellé de l'oiseau, acquit une structure plus protozoaire. Il est certain que des groupes entiers de hémosporidies se développaient de cette manière des protozoaires flagellés, comme le suppose maintenant la plupart des protozoologistes, la preuve nous la trouvons chez Schaudinn, Lühe, Hartmann et d'autres, qui indiquent l'apposition dans certains cas de formations flagellés chez différentes espèces du paludisme, — cette question pourtant n'est pas encore complètement décidée. Au règlement

que les parasites peuvent commencer la division du chromatine à n'importe quel moment de leur existence, je puis ajouter que les parasites peuvent dégénérer à n'importe quel moment de leur vie. Souvent dans la goutte de sang contenant des parasites on rencontre des globules rouges nouvellement infectés, dans lesquels les parasites se montrent en forme de filets, dans les mailles desquels on voit des morceaux de chromatine. Un portage pareil de chromatine en morceaux épais est très prononcé pendant la cure de quinine des malades, encore mieux dans les cultures, ce dont j'ai déjà fait mention dans mon travail précédent sur la culture des parasites de la Laverania malariae, dans lequel j'ai inclu les dessins de plusieurs espèces de parasites qui indiquaient non seulement leur division atypique, mais aussi le stade de leur dégénération. Il est difficile de fixer le type des parasites à la division atypique du chromatine dans les jeunes stades de leur développement et de faire des conclusions positives sur leur dégénération; ce qui ne laisse aucun doute, c'est qu'ils vivent et ne perdent pas la faculté de multiplication, nous le voyons dans les jeunes cas du paludisme chronique. (La morphologie des formes dégénératives des parasites sera citée dans un des prochains travaux.) De cette manière par le délassement précoce du chromatine se forment de nouveaux parasites (fig. 33) tout à fait capables à l'accroissement et à la vie dans le sang de l'homme. Chez les parasites que j'observais la présence du développement précoce du chromatine consiste assez distinctement en son accroissement en longueur, en forme de bâton, de fer à cheval, d'arc, demi-anneau ou en forme de grains. La forme bacillaire, de fer à cheval, d'arc embrasse souvent la moitié de la surface de l'anneau, même plus parfois. Des fois le chromatine se présentait en grains et donnait tous les signes de son démembrement morphologique. Dans ces cas les morceaux de chromatine dans les schizontes se délaissaient formant des noyaux épars et donnaient des grains de chromatine de différentes grandeurs.

Parallèlement la mérulation normale des schizontes se rencontre rarement et elle se passe avec des signes maladifs et anormaux dans les cellules des parasites.

Cette division hâtée et préliminaire du chromatine dans le cycle asexuel du développement des parasites se réproduit d'une manière moins prononcée. La division des gamètes se produit comme dans le type normal, quoique aussi hâtée, et souvent les jeunes mérozoïtes pénètrent dans le sang avec des noyaux mi-formés (fig. 47). Malgré que dans les parasites que j'avais observés la quantité du pigment était minimale et pas d'une couleur foncée comme chez la tertiana de Golgi, Grassi et Feletti, il n'augmentait point considérablement au moment de la mérulation normale; je suppose néanmoins que j'avais devant moi non point une variété quelconque du parasite du type vivax, mais sa mutation (les schizontes avaient peu de pigment, très peu dans les gamètes et une quantité minime dans les formes atypiques des parasites).

J'insiste encore sur ce que cela n'était pas une variété des parasites vivax parce qu'il y avait dans les frottis de sang de typiques parasites de tertiana, comme les ont décrit Grassi et Feletti. Dans mon autre travail j'indiquerai les circonstances qui peuvent influencer la mutation des parasites, il se peut que ces derniers ont pu créer ces espèces de parasites vu l'influence exercée sur eux par les forces défensives de l'organisme, qui ne les détruisant pas complètement

changeaient quand même leur morphologie. Voilà pourquoi les variétés des trois différents groupes fondamentals de parasites du paludisme décrites par Catanei, Achmed Emin, Blanchard et d'autres étaient il se peut formées par la mutation ou même entrecroisement des trois différentes formes de parasites, ou bien sous l'influence d'autres causes quellesconque. La décision définitive de cette question exige encore beaucoup d'observations et de travaux expérimentaux; aussi je ne fais aucune conclusion définitive — néanmoins terminant mon ouvrage présent j'en arrive à la conclusion que:

1) Les parasites observés chez le malade Ch. ne sont point une variété quelconque de la forme typique vivax, mais leur mutation sous l'influence de causes vitales inconnues.

2) Si nous savons que la division ordinaire asexuelle chez les hémisporidies consiste du développement des mérozoïtes, il en résulte que les parasites du paludisme de l'homme n'appartiennent point à cette classe, car ils ne peuvent être une exception à cette règle. La division simple et multiple du chromatine inhérente chez les Flagellés et la division simple marquée dans les piroplasmodidés ne font conclure que l'indication juste des formes égales à celles décrites et démontrées dans les dessins sont de nature à être considérées comme un simple délassement du noyau (fig. 11, 17, 33, 34 et 35), comme antithèse.

3) De cela je suppose que les phases du développement observé chez les parasites vivax comme une phase casuelle ou un stade de leur développement indiqueraient dans le gradin phylogénétique, un ancêtre précis, quelconque, c'est-à-dire l'atavisme des parasites. Ces symptômes atavistiques pouvaient naître, comme j'ai déjà cité, sous l'influence de circonstances peu favorables pour leur vie. Ces faits nous les observons non seulement sur les protozoaires, mais aussi sur les animaux supérieurs.

4) La sporulation des parasites, vu leur division exode et atypique observée dans le sang du malade, traînait en longeur faisant petit à petit, ce qui nous explique la température constamment élevée du malade.

5) La division du chromatine chez les jeunes formes de parasites du type tertiana (ce qui ne devrait pas être normalement) ne veut pas dire encore leur ruine (Plehn, Silberstein), car ils sont encore capables de développement ultérieur, cas illustré par la maladie ayant eu une longue durée douloureuse.

6) Si nous avons auparavant aux jeunes stades de la tertiana des anneaux, et souvent aux mûrs stades des parasites de structure phantastique, riche de protoplasme, il peut y avoir encore des parasites de ce type pauvres de plasme sans être d'une vitalité égale aux parasites développés normalement; ils ont été décrits par Grassi et Feletti, Golgi et d'autres auteurs postérieurs.

7) Les jeunes parasites ne sont point obligés de se former dans leur développement des formes de sporulation et d'après un schème depuis longtemps fait, mais ils peuvent naître du délassement surtout lorsque la quantité du protoplasme est minimale, ce qui prend place dans notre cas.

8) Il est difficile de dire, si le délassement précoce du chromatine chez les parasites est d'importance dans leur lutte pour l'existence, mais il est évident que les jeunes parasites formés d'une telle manière sont très viables ce qui à été constaté par la formation précoce de la granulation de Schüffner dans les érythrocytes contenant de tels parasites et la hâtive destruction des globules rouges du sang, ce qui fut encore indiqué plus tôt par Miss Lanson (qui étudiait l'anémie malarique pendant le paludisme).

9) Enfin les parasites que j'observais ne sont point une variation, mais une mutation, ce qui est prouvé par la présence des parasites normaux de tertiana dans les mêmes frottis du sang, ce qui ne devrait pas être, si la variation existait. Les parasites que j'ai observés chez le malade Ch. représentaient comme le prolongement du stade du développement des parasites de Chalmers sous nom de „tenue" ou Catanei comme forme atypique de Plasmodium vivax, par Chalmers et Archibald comme genre accidentiel de phases dans le développement du Plasmodium vivax Grassi et Feletti, en bien c'est une nouvelle variation du développement des parasites du type tertiana.

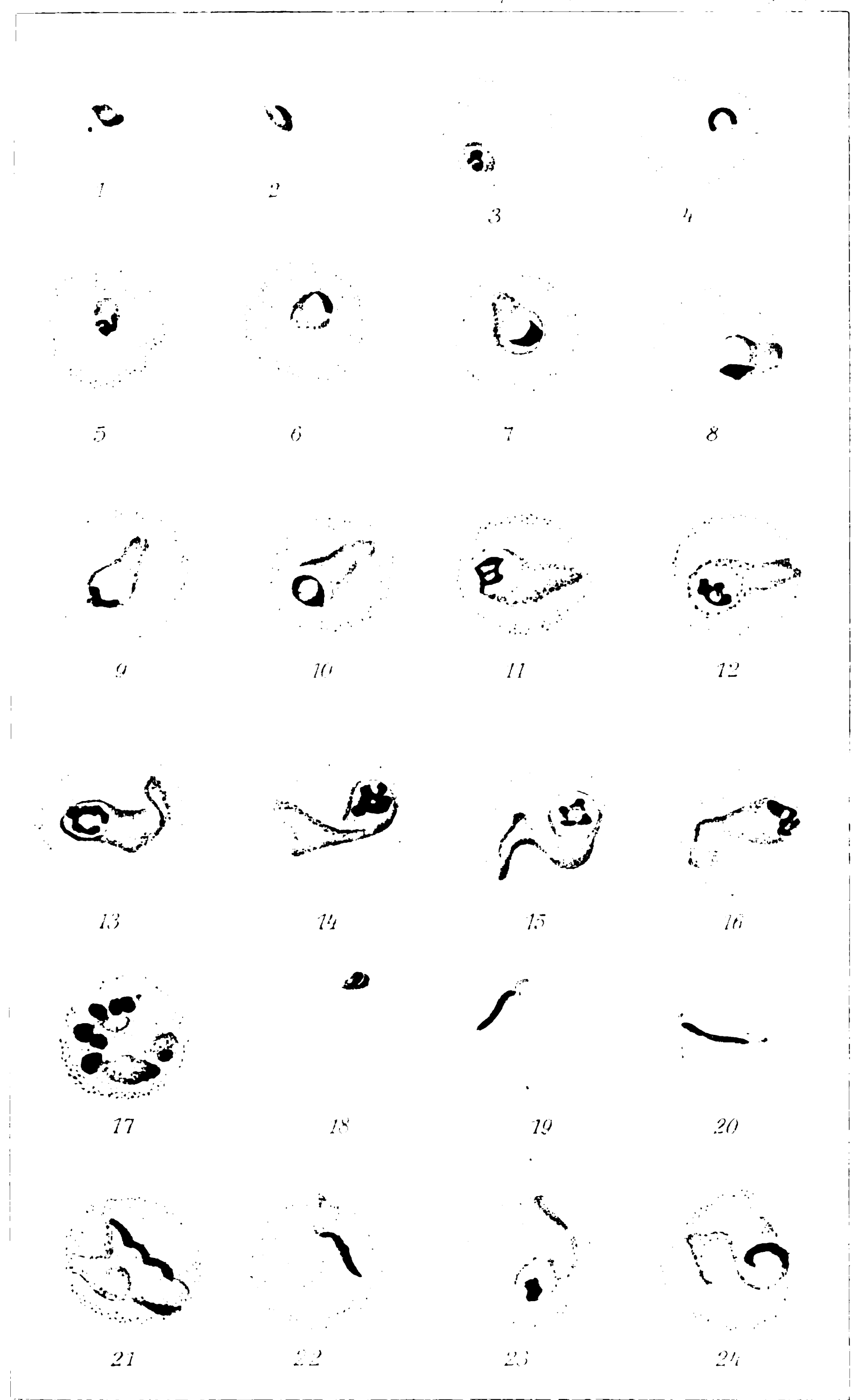
Il est impossible de décider la question affirmativement.

Description des planches.

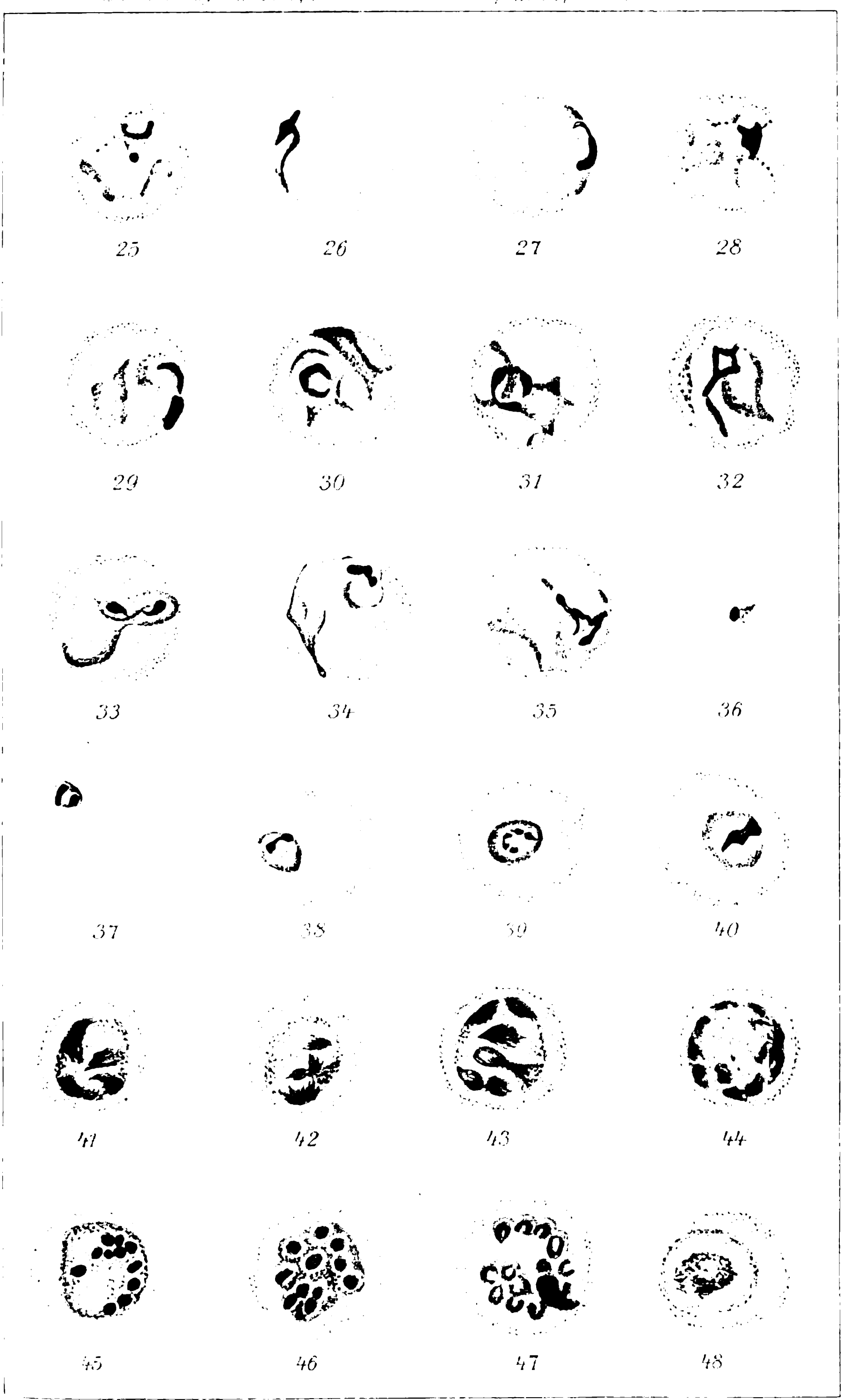
Fig. 1—17. Le développement et la division des schizontes (typiques en ce cas).
Fig. 18—36. Le développement et la division des formes atypiques des schizontes.
Fig. 37—47. Le développement et la division des gamètes.
Fig. 48. Microgamétocytes.

Bibliographie.

1) Grall et Marchoux, Paludisme. Paris 1912. — 2) Levi della Vida, Contributo allo studio morfologico e biologico del Plasmod. quartana. (Atti Soc. per gl. st. Malaria. T. 7. 1906.) — 3) Billet, Sur la forme hémogrégarinienne du parasite de la fièvre quarte. (Compt. rend. Soc. Biol. 19. 5. 1906.) — 4) Ziemann, Handbuch der Tropenkrankheiten. Bd. 3. — 5) Lühe, Die im Blute schmarotzenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten. (Hanbduch d. Tropenkrankheiten. Bd. 3.) — 6) Silberstein, Beobachtungen über die Entstehung von jungen Malariaparasiten aus älteren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34.) — 7) Ziemann, Zur Morphologie der Malariaparasiten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. 1897.) — 8) Ders., Id. (Ibid. Abt. I. Bd. 30. 1897.) — 9) Olpp, Die Reinkultur von Malariaplasmodien nach Bass und Johns. (Münch. med. Wochenschr. 1912. Nr. 48.) — 10) Celli und Santori, Die Inkubationsdauer des Malariafiebers nach der Behandlung mit Blutserum von immunen Tieren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 21. 1897.) — 11) Golgi, Ueber den Entwicklungskreislauf der Malariaparasiten bei der Febris tertiana. (Ibid. 1889; Fortschr. d. Med. 1889. No. 3.) — 12) Lewkowicz, Ueber den Entwicklungsgang und die Einteilung der Malariaparasiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 21. 1897.) — 13) Manson, P., On the nature and significance of the crescentic and flagellated bodies in malaria brood. (British med. Journ. 1894.) — 14) Marchoux, Transmission du paludisme par les moustiques. (Ann. d. Hyg. et Méd. col. 1899.) — 15) Maurer, Die Malaria perniciosa. (Ibid. 1899.) — Ders., Beitrag


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24




25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48



zur Biologie und Morphologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 32. 1902.) — 16) Doflein, Handbuch d. Protozoen. 1912. — 17) Pitschougine, Culture de Plasmodium vivax. (En russe.) — 18) Hartmann und Jollos, Phylogenetische Entwicklung und systematische Einteilung der Blutprotozoen. Die Flagellatenordung „Binucleata". (Arch. f. Protistenk. Bd. 19. 1910.) — 19) Berenberg-Gossler, Beiträge zur Geschichte des Malariaplasmodium. (Arch. f. Protistenk. Bd. 16. 1904.) — 20) Joukoff, La cultivation du parasite de paludisme. (Med. Obosrenie. 1913.) (En russe.) — 21) Argutinsky, Zur Kenntnis des Tropicaparasiten, Plasmod. praecox Grassi et Feletti. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 35.) — 22) Raymond et Grisèz, Paludisme autochtone. (Presse méd. 1917. No. 50.) — 23) Gourko et Hamburger, Sur la question de la cultivation des plasmodies du paludisme d'après la méthode de Bass et Johns. (Med. Obosbrenie. 1913. No. 4.) — 24) Celli, Die Malaria nach den neuesten Forschungen Hämosporidien des Menschen. 1912. — 25) Sakharoff, Ueber den Einfluß der Kälte auf die Lebensfähigkeit der Malariaparasiten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. No. 5—6.) — 26) Stephens, A new malaria parasite of man. (Ann. of trop. Med. and Parasit. Vol. 8. 1914.) — 27) Catanei, Morphologie des Plasmodium dans un accès mortel de paludisme. (Bullet. Soc. Pathol. Exot. 1922. No. 2.) — 28) Beguet et Plantier, Observations microscopiques au cours d'un accès pernicieux. (ibid. T. 6. 1913. No. 9.) — 29) Vialatte, Sur des formes atypiques de Pl. praecox (falciparum). (Arch. Inst. Pasteur de Tunis. 1921.) — 30) Achmed Emin, Une variété nouvelle du parasite de Laveran. (Ibid. T. 7. 1914.) — 31) Charmers and Archibald, The „Tenue" phase of Plasmodium vivax Grassi et Feletti 1890. (Journ. Trop. Med. and Hyg. 2. 2. 1920.) — 32) Ziemann, Ueber eigenartige Malariaparasitenformen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 76. 1915. No. 5.) — 33) Stein, Ueber die Struktur des Parasiten der Malaria tertiana. (Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. Bd. 159. 1900.) — 34) Ruge, Einführungen in das Studium der Malariakrankheiten. Jena 1906. 2. Aufl. — 35) Sakharoff, Die Malariaparasiten der Hämatoblasten und die Anwendung der Morphologie dieser Parasiten zur Entscheidung einiger Probleme der Blut- und Pigmentbildung. — 36) Billet, Hématozoaires du paludisme. (Bullet. Instit. Pasteur. 1913. No. 9.) — 37) Bass and Johns, Note on the cultivation of Malaria Plasmodia. (Journ. Americ. Assoc. 1913. No. 4.) — 38) Ziemann, Ueber die Kultur der Malariaparasiten und Piroplasmen. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. Bd. 17.) — 39) Celli u. Guarnieri, Ueber die Aetiologie der Malariainfection (Fortschr. d. Med. 1889. No. 14—15.)

Bakteriologische Untersuchungen über die Zahnkaries.

Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Mundbakterien.

[Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut der Universität Erlangen (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. L. Heim).]

Von Dr. med. **Karl Schlirf,**

Arzt und Zahnarzt, Assistenten am Institut.

Mit 2 Tafeln.

Wenn wir die Angaben, die in unseren einschlägigen zahnärztlichen Lehrbüchern und Zeitschriften über die bei der Zahnkaries gefundenen Kleinwesen gemacht werden, untereinander vergleichen, so stellt sich bald heraus, daß hier eine ganz erhebliche Verwirrung und Unklarheit herrscht.

So finden wir in dem neuen Handbuch der Zahnheilkunde von Scheff das Kapitel über die Bakterien der Zahnkaries von Jung in einer Weise abgehandelt, wie es dem heutigen Stande der Wissenschaft nicht mehr entspricht. Jung beschreibt hier auf Grund seiner

schon 1892 gefertigten Dissertation 10 verschiedene Arten von Kariesbakterien, die mit dem Buchstaben a—k bezeichnet sind, darunter verschiedene Stäbchenarten, Streptokokken und Mikrokokken und außerdem Formen, von denen er selbst nicht mit Bestimmtheit sagen kann, ob es Stäbchen oder Kokken sind. Er führt außerdem den unterdessen längst erledigten, von Arkövy und Dobrczyniecki beschriebenen Bacillus gangraenae pulpae an und erwähnt Arkövys Theorie, nach der auch durch Alkalibildung Karies entstehen könne. Nicht einmal die einschlägigen wichtigen Arbeiten von Goadby und Kantorowicz werden erwähnt. Die von K. ist nur im Literaturverzeichnis aufgeführt.

Goadby hatte die Annahme von W. D. Miller, daß zunächst das Dentin durch Säurebildner entkalkt wird und dann der endgültigen Zerstörung durch proteolytisch wirkende Keime anheimfällt, durch Versuche gestützt. Zu den Hauptsäurebildnern rechnete Goadby das von ihm Bacillus necrodentalis genannte Stäbchen und den Streptococcus brevis, zu den Dentinverflüssigern verschiedene Stäbchen der Mesentericus-Gruppe, darunter einen Bacillus furvus und einen Bacillus plexiformis.

Kantorowicz fand bei der Nachprüfung der Goadbyschen Untersuchungen in den tiefsten Schichten „mit Konstanz“ drei Gruppen säurebildender Mikroorganismen: 1) eine nicht verflüssigende Form von Staphylokokken, 2) zwei Streptokokkenarten, die er mit a und b bezeichnete, 3) drei Stäbchenarten, von denen er die eine als identisch erklärte mit Goadbys Bacillus necrodentalis. Die oberflächlichen Arten hat er nicht näher untersucht. Er erwähnt außer den von Goadby angegebenen Keimen als häufig hier vorkommende Dentinverflüssiger verschiedene Staphylokokken-, Hefe- und Sarzinearten, ferner Bacillus proteus, Bacillus fluorescens liquefaciens, Bacterium pyogenes gingivae Miller und Bacillus gangraenae pulpae Arkövy.

In dem Lehrbuch von Port-Euler und in der „Klinischen Zahnheilkunde“ von Kantorowicz sind vor allem diese Untersuchungsergebnisse verwertet.

Ueber die Berechtigung der zahlreichen, hier als Kariesbakterien aufgeführten Keime wird noch im folgenden zu sprechen sein.

Blessing bringt in der „Bakteriologie für Zahnärzte“ einen mangelhaften Auszug aus der Habilitationsschrift von Kantorowicz. Er beschreibt neben den Kariesstäbchen nur den Streptococcus a Kantorowicz; Streptococcus b und die von K. aufgestellten zwei Unterarten sind nicht näher erwähnt, obwohl Lichtbilder von ihnen beigegeben sind. Kritisch nimmt Blessing zu den für den Zahnarzt einschlägigen bakteriologischen Fragen in keiner Weise Stellung.

A. Seitz beschreibt in seiner „Bakteriologie für Zahnärzte“ als wichtigste Bakterienarten den Streptococcus lacticus Kruse und den Bacillus necrodentalis Goadby und kommt auf Grund eigener Untersuchungen zu der Ansicht, daß man den Streptococcus lacticus Kruse ständig in kariösen Zähnen finde, und zwar in an Reinkultur erinnernder Häufung; er bemerkt zusammenfassend, daß man die gesamte, gelegentlich im Munde vorkommende Flora natürlich in kariösen Zähnen wiederfinde, besonders häufig Leptothrix-Fäden, Staphylokokken, sehr häufig Hefepilze und Sarzinen und den Hauptfäulniserreger Bacillus proteus.

Die Arbeiten, die in neuerer Zeit in deutschen zahnärztlichen Zeitschriften veröffentlicht wurden, sind dazu angetan, die Verwirrung nur noch zu erhöhen. So stellen Hilgers und Sperling, gestützt auf die Untersuchungen von Kruse und Seitz, den Streptococcus lacticus als den ausschließlichen Erreger der Zahnkaries auf, da er bei der Zahnkaries in denjenigen Teilen des Zahngewebes, wo die Erkrankung im Beginn oder im Fortschreiten begriffen ist, überall in Reinkultur zu finden sei. Sperling geht sogar so weit, daß er den Bacillus necrodentalis als eine Stäbchenvariante des Streptococcus lacticus ansieht.

Andererseits kommt J. Becker bei seinen von Kantorowicz angeregten Untersuchungen über die Zahnkariesstreptokokken und ihre Typenbildung zu dem Schluß, daß die von K. aufgestellten Typen a und b keine verschiedenen Arten seien, sondern a eine Mutationsform von b darstelle. Er vertritt mit seinem Lehrer die Ansicht, daß die Kariesstreptokokken ebenso wie die gesamten Mundstreptokokken zur Gruppe des „Streptococcus viridans“ gehören — eine Ansicht, die, in Amerika aufgekommen, auch in dem deutschen zahnärztlichen Schrifttum eine bedenkliche Rolle spielt.

Im Sinne der bisher genannten Arbeiten schrieb auch Gins eine zusammenfassende Uebersicht in den „Fortschritten der Zahnheilkunde“, ohne irgendwelche neuere Untersuchungsergebnisse zu berücksichtigen.

Für das Zustandekommen der Karies wollen Baumgärtner und Hanazawa neben den Bakterien sogar im Munde vorkommende Protozoen verantwortlich machen. Baumgärtner berichtet: „Das Schmelzoberhäutchen wird überlagert von einem dicken Belag, aus amöbenähnlichen Protozoen bestehend. Zuerst wird das Schmelzoberhäutchen heller, dann werden die Begrenzungslinien knitterig und die Kontinuität getrennt. Die Fortsätze der Protozoen dringen zwischen die Schmelzprismen und die Kittlinien ein und zerstören organische und anorganische Substanzen.“ Hanazawa will Protozoen in dem kariösen Detritus gefunden haben. In der „Zahnärztlichen Rundschau“ kündigt Dechow an, daß es ihm gelungen sei, in der Myxamoeba buccalis den spezifischen Erreger der Caries dentium entdeckt zu haben.

Wir hatten am hiesigen Institut anläßlich der in der letzten Zeit unter Leitung von Greve gefertigten Dissertation von Walter Gelegenheit, uns auch über den Beginn der Schmelzkaries an Hand der von W. gefertigten Zahnschliffe zu orientieren. Weder in den von den Amerikanern in der neuesten Zeit so häufig erwähnten Plaques oder Films noch auch im kariösen Detritus konnten wir amöbenähnliche Gebilde feststellen. In der von Baumgärtner beigegebenen Zeichnung muß der unbefangene Beobachter diese Protozoen ohne weiteres als Leukozyten erkennen.

Diese unklaren und widersprechenden Angaben veranlaßten Herrn Prof. Heim, die Frage der Bakterien der Zahnkaries gemeinsam mit mit zu bearbeiten und sie von mir weiter verfolgen zu lassen.

Entnahme, Aussaat und Züchtung.

Wir untersuchten fast nur Zähne, die einer einfachen konservativen Behandlung zugängig waren, also vor allem weniger fortgeschrittene Fälle ohne Beteiligung der Pulpa[1]).

1) Herrn Prof. Greve sind wir nicht nur für die zahlreichen Anregungen, sondern auch für die stets gerne gewährte Unterstützung bei der Entnahme von

Der kariöse Zahn wurde, womöglich durch Anlegen eines Cofferdams, trocken gelegt, durch Betupfen mit Watte gut gereinigt, aus der kariösen Stelle die oberflächlichsten Schichten nebst etwaigen Speiseresten mit dem Exkavator entfernt, dann mit Alkohol behandelt und mit Heißluft getrocknet. Mit einem weiteren abgeflammten oder ausgekochten Exkavator wurde dann die Schicht des erweichten Dentins im ganzen oder in Bröckeln entnommen und hierauf mit sterilen Bohrern der Bohrstaub gewonnen. Dentinstückchen und Bohrstaub sammelten wir getrennt in sterilen Petri-Schalen und verbrachten sie ins nahegelegene Institut.

Einen Teil des kariösen Dentins streuten wir auf einer in zwei Hälften geteilten Lackmustraubenzuckeragarplatte (PH 7,6) aus; auf der einen Hälfte ließen wir die Dentinstückchen liegen, auf der anderen Hälfte wurden sie mit der sterilen Kuppe eines Reagenzglases ausgestrichen. Einen anderen Teil säten wir in Leberleberbrühe (mit 1 Proz. Traubenzucker ohne Paraffinüberschichtung) ein.

Dieses Verfahren der Aussaat hat sich im weiteren Verlaufe sehr gut bewährt. Versuche der Züchtung auf Gelatine bei Zimmertemperatur ergaben kein oder nur sehr spärliches Wachstum. Auch die Bebrütung bei Luftabschluß über Pyrogallol erübrigte sich, da obligate Anaërobier im Bohrstaub selbst weder in der nach Würcker und unseren Erfahrungen zur Anaërobenzüchtung vorzüglich geeigneten Leberleberbrühe, noch bei den üblichen Verfahren auf festen Nährböden, auch nicht mit Ascites- und Serumzusatz nachgewiesen werden konnten.

Nach 48stünd. Bebrütung waren zahlreiche rötende und nichtrötende Ansiedelungen auf der Agarplatte angegangen, besonders reichlich auf der ausgestrichenen Seite; auf der ausgestreuten Seite, wo die Bohrstückchen noch gröber geblieben waren, waren viele von ihnen mit dicken oder dünneren Bakterienrasen umgeben, einige dagegen nicht, obwohl sie eine kräftige Rötung angenommen hatten. Tatsächlich erwiesen sich die meisten dieser geröteten Stückchen bei der folgenden Uebertragung auf Zuckeragar oder in Leberleberbrühe als keimfrei.

Fig. 1 zeigt die aus ausgestrichenem Bohrstaub gewachsenen Ansiedelungen. Alle waren Streptokokken, wie sie gewöhnlich in der Mundhöhle vorkommen. Die voneinander verschiedenen Ansiedelungen entsprechen unseres Erachtens teilweise verschiedenen Streptokokkenarten (siehe Abschnitt 2).

Die Leberleberbrühe war nach 24 Std. bereits stark trüb mit kräftigem Bodensatz. Die Trübung hellte sich meist nach einigen Tagen etwas auf.

Zur Gewinnung der Reinkulturen wurden unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung (Leitz 2) einzelstehende Kolonien abgeimpft und auf Sektoren von Zuckeragarplatten ausgestrichen. Aus dem in der Leberleberbrühe gewachsenen Bodensatz wurde eine kleinste Oese auf weitere 1 oder 2 Sektoren der Agarplatte verteilt. Ein Gram-Präparat unterrichtete über die Art der Keime.

Die 24—48 Std. bebrüteten Agarplatten wurden unter dem Mikroskop angesehen, die verschieden aussehenden Ansiedelungen in Zucker- oder in Leberleberbrühe abgeimpft, die daraus erhaltenen Stämme abermals auf ihre Reinheit geprüft, erforderlichenfalls mikrophotographisch aufgenommen und Reinzuchten von ihnen an Seidenfäden angetrocknet im Exsikkator aufbewahrt.

Bohrstaub zu Dank verpflichtet. Seinen Assistenten, besonders Herrn Dr. Herzog, sei ebenfalls an dieser Stelle gedankt.

Nur durch peinliche Beobachtung dieser Grundsätze der Reinzucht, die nicht immer genau befolgt zu werden scheinen, lassen sich Mischkulturen vermeiden, die zu manchen falschen Auffassungen und Irrtümern geführt haben. (Schlirf, Bd. 97, S. 109 dieses Centralbl.) Wie man sich auch bei aller Vorsicht täuschen kann, zeigt die Mischkultur in Fig. 9. Aus Kariesbohrstaub war eine einzelstehende Ansiedelung aufgegangen und in Brühe abgeimpft worden, in der sich nur Streptokokken fanden. Als daraus eine Agarplatte angelegt war, erschienen in ihr nun in der 3. Generation nach 7 Tagen Azidobakterien, die bisher unerkannt mit den Streptokokken zusammen übertragen worden waren.

1. Azidobakterien.

Als wir vor nahezu 3 Jahren den ersten Fall von Dentinkaries bakteriologisch untersuchten, glaubten wir zunächst ein ähnliches Bild zu erhalten, wie es Sieberth bereits vor 26 Jahren am hiesigen Institut bei der Pulpitis beschrieben hat, seit dessen grundlegenden Untersuchungen Streptokokken als Erreger der Pulpitis anerkannt sind. Wir waren aber erstaunt, gleich im 1. Falle grampositive Stäbchen nahezu in Reinkultur zu finden. Im weiteren Verlaufe sind wir ihnen häufig begegnet. Unter 25 im Laufe von $2^1/_2$ Jahren untersuchten Fällen fanden wir sie 20mal, darunter waren sie 10mal in Reinkultur vorhanden. Dieser Befund fiel uns auf, weil wir ähnliches bei unseren zahlreichen Zungen- und Zahnbelagabstrichen selten beobachtet hatten.

Es ist das Verdienst von Goadby, auf die „Kariesstäbchen" zuerst aufmerksam gemacht zu haben. Er hat sie in 20 von ihm untersuchten kariösen Zähnen oft fast in Reinkultur festgestellt. Wegen der erheblichen entkalkenden Wirkung dieser säurebildenden Stäbchen nannte er sie, auf den Vorschlag von Perry, Bacillus necrodentalis. 11 Jahre später hat Kantorowicz neben dem Bacillus necrodentalis Goadby noch zwei andere ähnliche Stäbchen im kariösen Dentin beschrieben und schon damals weitere Untersuchungen gefordert, um das Verhältnis der bei der Karies vorkommenden Stäbchen zu den im Säuglingsdarm vorhandenen, von Moro zuerst beschriebenen aufzuklären. Neuere ausländische Forscher wie Kligler, Howe und Hatch, James, Mc. Intosh und Lazarus Barlow, Rodriguez sowie Sierakowsky und Zeydel sahen ihre bei der Karies gefundenen Stäbchen als entsprechend dem Bacillus acidophilus Moro an. Aber auch diese Untersucher haben den von ihnen gefundenen Keimen nur wiederum neue Namen gegeben, ohne durch vergleichende Untersuchungen den Zusammenhang mit anderwärts vorkommenden, ähnlichen Arten herzustellen.

Da wir neben dem Bacillus necrodentalis auch noch andere ähnliche Stäbchen fanden, die wir zunächst mit dem Buchstaben K (Karies) a—e belegten (Heim[3]), haben wir weiterhin auch aus Säuglingsstühlen, der Scheide von Schwangeren, der Mundhöhle, der bulgarischen Sauermilch usw. azidophile Keime gezüchtet und mit den in der Karies gefundenen verglichen. Dabei wurden weitgehende Uebereinstimmungen festgestellt.

Die verwirrende Namengebung, die auf dem Gebiete der „azidophilen Keime" herrschte und die unklaren Angaben der einzelnen Autoren über die von ihnen gefundenen Keime wurden durch Heim beseitigt, der diese wichtige Bakteriengruppe unter dem bezeichnenden Namen

„Azidobakterien" zusammenfaßte. Es wurden in diese Gruppe die bisher bekannten und als verschieden ermittelten Arten als Acidobacterium lactis, aërogenes, Moroi, Döderleinii und bulgaricum eingereiht. Die genaue Beschreibung der einzelnen Arten findet sich in meiner Arbeit „Zur Kenntnis der azidophilen Bakterien" in diesem Centralbl.

Unter Zugrundelegung dieser Neueinteilung kommen wir, was die Kariesstäbchen anlangt, nach unseren Untersuchungsbefunden zu folgenden Ergebnissen: Das Acb. lactis, das wir unter 25 Fällen 14mal, darunter 10mal allein in der Karies fanden (Fig. 2), wurde früher als Bacillus necrodentalis von Goadby in der Karies, als Bacillus acidophilus Moro im Säuglingsstuhl, als Bacillus vaginalis minor von Maunu af Heurlin in der Scheide beschrieben. Das Acb. aërogenes Schlirf, bei Heim ursprünglich als Stäbchen Ka geführt, wahrscheinlich identisch mit dem Stamm II von Kantorowicz, haben wir in 8 Fällen, darunter 3mal in der Ueberzahl gefunden; Acb. Moroi Schlirf in einem Falle; Acb. Doederleinii Heim, der Döderleinsche Scheidenbazillus, von Kruse als Bacillus vaginae, von Maunu af Heurlin als Bacillus vaginalis longus, von Lipschütz als Bacillus crassus beschrieben, fand sich in 3 Fällen von Dentinkaries (von Heim ursprünglich mit Ke bezeichnet). Es erscheint mir belanglos, die unter verschiedensten Namen hauptsächlich von ausländischen Forschern beschriebenen Kariesstäbchen hier einzureihen.

Die erwähnten Azidobakterien haben wir somit in rund 80 Proz. der Fälle aus kariösen Zähnen gezüchtet. Später fanden wir sie auf Grund größerer Erfahrung in der Auswahl typischer Kariesfälle und vor allem auch mittels des von uns ausgearbeiteten Anreicherungsverfahrens in Leberleberbrühe in 100 Proz. der Fälle. Sie wurden nicht nur in den tiefen, sondern auch in den oberflächlichen Schichten kariösen Dentins festgesetllt.

Die Azidobakterien, die erfahrungsgemäß nur selten in der normalen Mundhöhle gefunden werden, die dagegen regelmäßig im Darm vorkommen und hier besonders beim Säugling die physiologische Flora beherrschen, bei der Frau die normale saure Reaktion des Scheidensekretes bedingen und auch außerhalb des Körpers, z. B. in der Milch, als Säureerreger tätig sein können, finden wir somit vorherrschend im kariösen Dentin.

Sie haben als Säureerrger die wichtige Eigenschaft, andere Keime, namentlich eiweißverflüssigende Sporenbildner zu überwuchern und ihre verdauende Wirkung zu verhindern. Diese von Kühl, ferner von Torrey und Kahn festgelegte Tatsache haben wir bei unseren Untersuchungen über die Azidobakterien, und vor allem auch bei unseren Kariesuntersuchungen bestätigt gefunden. Dieser Umstand ist für das Verständnis der Kariesbakteriologie besonders wichtig.

Es erscheint unter diesem Gesichtspunkte das Problem der „Dentinverflüssigung" in einem ganz anderen Lichte (siehe unter 4).

Das Säurebildungsvermögen der Azidobakterien übertrifft das der Streptokokken um das Doppelte bis Zehnfache (Schlirf, Tabelle). Nach diesen Befunden, die sich mit denen von Goadby und anderen Forschern erhobenen decken, müssen wir die Azidobakterien und vor allem das Acb. lactis (= Bacillus necro-

dentalis Goadby) als wichtigstes Kariesbakterium in den Vordergrund stellen.

Die Abbildungen 2, 3 und 4 bringen verschiedene Formen der Ansiedelungen (weitere in meiner Tafel Bd. 97, S. 118 dieses Centralbl.), Abbildung 5 zeigt die schlanken Stäbchen und Scheinfäden, Abbildung 6 die Streptokokkenform des Acb. lactis.

Wenn Heim (3) zu dem Schlusse kommt, daß man zwar den Bakterien der Azidophilus-Gruppe (= Azidobakterien) eine wichtige Rolle bei der Entkalkung des Dentins zuschreiben müsse, daß man dabei aber die Streptokokken nicht übersehen und ausschalten dürfe, so besteht dieser Satz auch heute noch zu Recht.

Die weiteren Untersuchungen und die größere Erfahrung bei der klinischen Bewertung der einzelnen Kariesfälle gaben wichtige Anhaltspunkte dafür, daß auf Grund des bakteriologischen Befundes zwischen chronischer und florider Karies unterschieden werden müsse. In den Fällen, wo Acb. lactis in überwiegender Zahl gefunden wird, ist infolge der sehr starken Säurebildung dieses Keimes mit einer rasch fortschreitenden Entkalkung des Zahnbeines zu rechnen. Es liegt dann eine floride Karies vor. In anderen Fällen, wo die weniger Säure erzeugenden Streptokokken in der Vorhand sind, wird eine mehr langsam fortschreitende chronische Karies anzunehmen sein.

Ueber die Bedingungen, unter denen die Azidobakterien bei der Zahnkaries auftreten und überwuchern, ist nichts bekannt. Während wir sie in der normalen Mundhöhle Erwachsener, wie erwähnt, nicht gefunden haben, stellte sie Naujoks im Munde des Säuglings fest, auch züchteten wir sie wiederholt aus einer zahnlosen Mundhöhle, ferner aus 2 schlechten Mundhöhlen, die reichlich Karies und mehrere schmierige Wurzelstümpfe enthielten (Schlirf). Vielleicht geben weitere Untersuchungen hier einen Aufschluß. Es ist ferner das Bild der floriden und chronischen Karies bakteriologisch und pathologisch-histologisch zu klären, auch ist noch festzustellen, wie lange die Entkalkung des Dentins dauert, wenn Azidobakterien oder wenn Streptokokken auf das Zahnbein einwirken.

2. Streptokokken.

Unter unseren 25 Kariesfällen haben wir die Streptokokken 5mal vermißt. In den 80 Proz. fanden sie sich sowohl in den Plattenaussaaten als auch in den Brühekulturen. Es waren fast durchweg kurze Streptokokken, selten mittellange.

Die gelegentliche Prüfung des Säuerungsvermögens der zahlreichen reingezüchteten Streptokokkenstämme in Leberleberbrühe mit 1proz. Traubenzucker ergab nach 6 Tagen Durchschnittswerte, die sich zwischen 0,5 und 5,0 ccm n/10 Lauge auf 10,0 ccm Brühekultur bewegten. Eckerlein stellte für die von ihm aus dem Zungenbelag gesunder Menschen gezüchteten Streptokokken Werte von 0,3—1,8 ccm nach 3 Tagen in 1proz. Traubenzuckerbrühe fest. Wenn das auch bedeutend geringere Werte als unsere sind, so muß berücksichtigt werden, daß dort schon nach 3 Tagen die Säuretitration vorgenommen wurde. Außerdem haben wir zur Prüfung des Säuerungsvermögens Leberleberbrühe verwendet, in der, wie bekannt, die meisten Keime besser wachsen und nicht nur die Azidobakterien, sondern auch die Streptokokken höhere Säurewerte bilden. Jedenfalls sind auch unsere Werte

nicht so groß, daß von einer erheblichen Säurebildung der Streptokokken gesprochen werden kann.

Die größten Säurewerte lieferte der Streptococcus lapillus Heim (5,0 ccm n/10 Lauge auf 10,0 ccm Brühekultur). Seine kleinen, rundlichen, undurchsichtigen Ansiedelungen, die bei schwacher Vergrößerung wie Steinchen verstreut auf der Agaroberfläche liegen (Fig. 8), lassen sich mit der Platinnadel hin und her schieben und sind nur schwer, höchstens im Ganzen abimpfbar. Der Streptococcus lapillus trübt die Brühe, macht die Lackmusmilch rosafarben und bringt sie zur Gerinnung. Sie wird dann von unten her bis zur halben Höhe weiß und nachher wieder rot. Er ist ein kleiner Kokkus und bildet nur kurze Ketten (Fig. 7). Mit ihm stimmt der von Kantorowicz als Streptococcus a beschriebene überein.

Die Kariesstreptokokken stammen aus der Mundhöhle und gehören zu ihrer gewöhnlichen Flora. Aus Zungen- und Zahnbelag wachsen von den mannigfaltigen, hier vorkommenden Bakterienarten bei den gewöhnlichen Züchtungsmethoden fast ausschließlich Streptokokken, die auf Agarplatten die verschiedensten Kolonienformen zeigen. Fig. 10 gibt davon einen Ausschnitt.

Wenn auch mundbakteriologische Untersuchungen zu den schwierigen gehören, so lassen sich doch mit genügender Aufmerksamkeit und Sorgsamkeit verschiedene Arten unter den Mundstreptokokken unterscheiden. Keinesfalls können wir uns mit der von amerikanischen Forschern, ferner von Kantorowicz, Becker und anderen vertretenen Anschauung einverstanden erklären, daß die im Munde, bei Karies, Pulpitis und Periodontitis gewöhnlich vorkommenden Streptokokken Abarten des Streptococcus viridans seien, also eines ausgesprochen pathogenen Streptokokkus. A. a. O. wird hierauf näher eingegangen werden.

Der Streptococcus viridans, der Erreger der chronischen Sepsis bzw. der Endocarditis lenta, ist nach Schottmüller ein nicht hämolysierender, auf Blutagar grünlich wachsender Streptokokkus. Er ist nach Kuczynski und Wolff eine weniger virulente Variante des Streptococcus haemolyticus. Schnitzer und Munter sehen ihn als eine unter gewissen Bedingungen aus dem hämolytischen Streptokokkus hervorgegangene und in ihn wieder zurückführbare Zustandsform an.

Es kommen im Munde neben vergrünenden und hämolysierenden Streptokokken auch solche vor, die weder hämolysieren noch vergrünen, so z. B. der Str. lapillus, bei dem wir außerdem noch nie gesehen haben, daß er auf gewöhnlichem Agar neben seinen undurchsichtigen kleinen Ansiedelungen auch feingekörnte oder maschenförmige bildete.

Die Mundstreptokokken gehören weder zur Gruppe des Streptococcus viridans, noch sind sie, wie das von Seitz und Hilgers behauptet wird, dem Streptococcus lacticus Kruse zuzurechnen. Heim (2) hat den Streptococcus lactis eingehend beschrieben und als wichtigstes Erkennungsmerkmal sein Verhalten in der Lackmusmilch dargelegt, das von dem aller anderen Streptokokken abweicht. Wir konnten im Munde nur ein einziges Mal einen echten Milchsäurestreptokokkus feststellen. Er wurde aus meinem Zahnbelag gezüchtet, nachdem ich einige Stunden vorher Käse genossen hatte. In der Karies haben wir den Streptococcus lactis nie gefunden. Die Ansicht Sperlings, daß der Bacillus necrodentalis eine Stäbchenvariante des Streptococcus lacti-

cus Kruse sei, habe ich bereits a. a. O. als unrichtig und verwirrend zurückgewiesen.

Es lassen sich mit den üblichen Verfahren, insbesondere auf Grund des Aussehens der Ansiedelungen bei schwacher Vergrößerung sehr wohl verschiedene Arten der im Munde vorkommenden Streptokokken unterscheiden, so der Streptococcus conglomeratus Kurth (Heim, 1) mit seinen maschenförmigen Ansiedelungen, der durch seine längsten, geraden Ketten ausgezeichnete Streptococcus longissimus Spengler (Heim, 1), der kleine Streptococcus lapillus Heim mit seinen steinchenförmigen Ansiedelungen, der durch seine dunkeln, undurchsichtigen Ansiedelungen gekennzeichnete, bei Eckerlein beschriebene Streptococcus opacus Heim, der von Kraskowski und Nitsch beschriebene, dann von Eckerlein zeitweise in der Mundhöhle gefundene Streptococcus polymorphus, endlich der durch seine flachen, außerordentlich zarten, kaum sichtbaren Ansiedelungen ausgezeichnete Streptococcus halitus (Heim, 2).

Unter den feingranulierten und maschenförmigen, wie auch unter den undurchsichtigen und dunkeln Ansiedelungen (Fig. 10) finden sich allerdings immer noch welche, die wir als verschiedenartig oder wenigstens als Varietäten ansehen müssen. Ihre genaue Unterscheidung ist bis jetzt mangels geeigneter Unterscheidungsmittel noch nicht möglich. Auch die Anwendung verschiedener Nährmittel und Zuckerarten, serologische Prüfungen und Tierversuche haben hier nur wenig Aufschlüsse gegeben oder versagt. Eingehende Untersuchungen sind noch anzustellen, bis restlos Klarheit herrscht. Jedenfalls sind wir weit von der Ansicht derer entfernt, die alle Streptokokken als eine Einheit auffassen und behaupten, willkürlich jeden Streptokokkus in einen anderen überführen zu können.

Zusammenfassend kann hier gesagt werden, daß sich unter den aus der physiologischen Flora der Mundhöhle stammenden Kariesstreptokokken sehr wohl unterscheidbare Arten finden, vor allem der Streptococcus lapillus Heim. Es erübrigt sich die besondere Aufstellung eines Streptococcus necrodentalis. Wir können nach unseren Befunden der Ansicht Hadleys nicht beipflichten, der den Streptokokken jegliche Beteiligung bei der Karies abspricht.

Streptokokken und Azidobakterien streiten beim kariösen Prozeß um den Vorrang, wobei wir die Azidobakterien als die wichtigsten Zerstörer harter Zahnsubstanz anzusehen haben. Ist die Pulpa erreicht, dann treten diese gewöhnlichen Mundstreptokokken als die Erreger der Pulpitis in den Vordergrund. Sie sind unseres Erachtens nicht als pathogene Keime aufzufassen im Sinne z. B. des Streptococcus pyogenes oder viridans. Sie wirken zwar entzündungserregend, sobald sie mit empfänglichem Gewebe in Berührung kommen, in ähnlicher Weise wie Bact. coli, das als harmloser Darmbewohner bei seiner Ansiedelung in der Bauchhöhle oder in den Harnwegen Coli-Peritonitis, -Cystitis und -Pyelitis hervorruft. Von reiner „Oralsepsis“ oder „Focalinfektion“ kann nur in den seltenen Fällen gesprochen werden, bei denen eine Infektion mit echten pathogenen Keimen und deren Uebertritt in die Blutbahn vorliegt. Die gewöhnlichen Zahnerkran-

kungen bleiben auf den Bereich des Zahnsystems und dessen nächster Umgebung beschränkt.

3. Mundanaërobier, insbesondere Fusobakterien.

Die Fusobakterien gehören neben den Spirochäten und Spirillen zu den schwer züchtbaren, anaëroben und serophilen Keimen der Mundhöhle, über deren Wesen und Wirken noch nicht völlige Klarheit herrscht. Ellermann, Knorr, Mühlens, Reiter und andere haben durch mühevolle Untersuchungen einiges Licht in das Gebiet dieser sogenannten Mundanaërobier gebracht.

Fusobakterien sind in symbiotischer Gemeinschaft mit Spirochäten und Spirillen bei allen mit seröser Exsudation einhergehenden Prozessen in der Mundhöhle vertreten, wie Alveolarpyrrhoe (Fig. 11), Angina Plaut-Vincenti, Stomatitiden und Gingivitiden. Auch nach Zahnextraktionen können Fusobakterien und Spirochäten im Bereiche der blutdurchtränkten Alveole auftreten. Wir haben diese fusospirilläre Symbiose nicht, wie früher angenommen, als die auslösende Ursache dieser entzündlichen Mundaffektionen anzusehen, sondern als ein Schmarotzerwachstum auf einem günstigen Nährboden.

Im zahnärztlichen Schrifttum findet sich eine erstaunliche Unklarheit über die im Munde gewöhnlich vorkommenden Anaërobier überhaupt und insbesondere über die Spirillen, Spirochäten und Fusobakterien.

Diese kommen auch in den oft schmierig erweichten Massen der Karieshöhle in Symbiose mit Streptokokken vor. Typische Nestbildung zeigt ein Ausstrich aus einer oberflächlichen Schicht einer mit Blut durchtränkten kariösen Stelle eines wegen chronischer Periodonditis ausgezogenen Zahnes (Fig. 13). Eine Vergesellschaftung kleinster Fusobakterien mit Streptokokken erhielten wir in gewöhnlicher Brühe aus Peritonealeiter einer mit Mundspeichel infizierten Maus, die nach 16 Tagen gestorben war (Fig. 12).

Die Symbiose der Fusobakterien mit den Streptokokken ist von Bedeutung für das Wachstum der Fusobakterien, da ihnen die Streptokokken den Nährboden vorbereiten, und vielleicht ist auf die vereinigte Wirkung von Fusobakterien und Kokken überhaupt die Gestankbildung bei manchen Zerfallsprozessen, wozu die Karies und die Pulpagangrän gehören, zurückzuführen.

Knorr sowie Repaci haben je einmal aus der Karies Fusobakterien in Reinkultur gezüchtet. Ersterer hat ferner nachgewiesen, daß die Fusobakterien in mit Serum versetzter Zuckerbrühe Säurewerte bilden, die sich zwischen 1,4—4,0 ccm n/10 Lauge auf 10,0 Brühekultur bewegen, wobei das Serum zur Gerinnung gebracht wird. Es sind dies in Anbetracht der Pufferung ganz erhebliche Werte, so daß die Fusobakterien sehr wohl bei der Entkalkung der harten Zahnsubstanzen mitwirken können.

In den tiefen Schichten kariösen Dentins fanden wir sie nur 2mal, und zwar an Bohrstückchen, die nach 24stünd. Bebrütung vom Agar abgehoben worden waren. Wir haben nicht den Eindruck gewonnen, daß Fusobakterien gehäuft in den tiefen Kariesschichten vorkommen.

Es erwähnt nun Hadley in seiner zusammenfassenden Uebersicht über Bakterien und Zahnkaries unter den Keimen, die die primäre Karies einleiten sollen, neben den azidophilen Bakterien und Sporenbildnern Cladothrix placoides, — andere Autoren, z. B. Seitz, nennen Leptothrix als Karieserreger. Heim (3) hat nun in seiner kritischen Betrachtung zu dem gleichnamigen Abschnitt von Hadleys Arbeit darauf hingewiesen, daß Bezeichnungen wie Cladothrix und Leptothrix für im Munde häufig vorkommende Kleinwesen nach dem heutigen Stande der Wissenschaft sich nicht mehr aufrecht erhalten lassen. Es handle sich bei all diesen, unter jenen falschen Namen beschriebenen Keimen höchstwahrscheinlich um Fusobakterien.

Es ist nun eine allgemein bekannte Tatsache, daß diese regelmäßigen Mundbewohner vor allem in den Bakterienbelägen der Fissuren und Winkel der Zähne, sowie in den Taschen des Zahnfleisches immer zahlreich vertreten sind — also überall da, wo Muzin und Nahrungsbestandteile, vermischt mit Bakterien, eine besonders günstige Haftstelle finden. In Fig. 15 — einem Ausstrich aus einer Zahnfleischtasche — sind vor allem die großen Formen der Fusobakterien vertreten.

Wegen ihres Säurebildungsvermögens und ihres gehäuften Vorkommens an den Stellen, die besonders zu Karies neigen, sind wir mit Hadley der Ansicht, daß die Fusobakterien an dem Beginn der Zahnkaries einen Anteil haben.

Einen näheren Einblick in die Verhältnisse bei beginnender Zahnkaries gaben uns die von Walter auf Veranlassung von Greve gefertigten Zahnschliffe. Bei ihrer Durchsicht konnten wir zunächst die Williamschen Befunde bestätigen, daß die Karies gewöhnlich in Form einer keilförmigen Entkalkungszone des Schmelzes einsetzt. Schon der frühzeitige Kariesbeginn ist an der Aufhellung und der Verwaschenheit der Schmelzstruktur zu erkennen (Fig. 16). Obwohl wir zahlreiche, nach Gram gefärbte Zahnschliffe mit beginnender Schmelzkaries bei starker Vergrößerung eingehend durchmusterten, konnten wir nie im Entkalkungsbereiche selbst, vor allem nicht in den Kittlinien des Schmelzes, Keime nachweisen. Man erkennt daraus, daß die Entkalkung durch Säurediffusion bewirkt wird, die der Einwanderung der Bakterien vorausgeht. Da sich, wie eingangs erwähnt, unter den auf Lackmuszuckeragar ausgestreuten Bohrstückchen immer welche fanden, die stark sauer reagierten, sich aber steril erwiesen, so ist auch dieser Befund in gleichem Sinne zu deuten.

Erst an der Grenze zwischen Entkalkungs- und Zerfallszone, also dort, wo nach vollständiger Entkalkung nur noch ein dünnes Netzwerk organischer Substanz übrig bleibt, haben wir kokkenähnliche Gebilde gesehen (Fig. 14). Fusobakterien, die in den Bakterienbelägen immer zu finden sind, wurden in den gefärbten Schliffen von uns nicht festgestellt. Für bakteriologische Untersuchungen sind Zahnschliffe überhaupt wenig geeignet, da sie für unsere Begriffe ungemein dick und die Anhäufungen von Bakterien in solchen Massen vorhanden sind, daß eine Unterscheidung einzelner Keime nicht möglich ist.

Inwieweit man den Schmelzoberhäutchen eine Abwehrrolle gegen die Karies zuschreiben darf und ob es unbedingt notwendig ist, daß Fehler und Risse für ihr Zustandekommen vorhanden sein müssen, bleibt dahingestellt. Das Schmelzoberhäutchen ist ein ganz zartes, bei 1000facher

Vergrößerung kaum 1 mm breites, hornartiges, größtenteils aus organischen Stoffen bestehendes Gebilde, von dem anzunehmen ist, daß es als semipermeable Membran wirkt. Es kann auch gelegentlich einreißen, wenn der Schmelz durch Säurediffusion den größten Teil seiner Substanz verloren hat und so die anorganische Stütze fehlt. An der deutlich ausgeprägten Stelle in Fig. 16 (beginnende Karies) fehlt das Schmelzoberhäutchen sicher, an der weniger gut sichtbaren Stelle links mit ganz frühzeitigem Kariesbeginn läßt sich sein Vorhandensein oder Fehlen nicht erkennen. Die Oberfläche ist hier mit einem Bakterienbelag überzogen. Die scharfe Einstellung bereitete bei den Schliffen besondere Schwierigkeiten. War z. B. das Schmelzoberhäutchen in allen Teilen gut sichtbar, dann war von der Schmelzstruktur nichts mehr zu sehen und umgekehrt.

Zusammenfassend kann hier gesagt werden: Normalerweise in der Mundhöhle vorkommende säurebildende Kleinwesen, darunter Fusobakterien und Streptokokken, leiten an disponierten Stellen durch Bildung einer keilförmigen Entkalkungszone den kariösen Prozeß ein; die Schmelzprismen stürzen infolge des Entzuges ihrer anorganischen Stützsubstanz zusammen, es bildet sich eine kleine trichterförmige Höhle, in der sich im weiteren Verlaufe die Bakterien vermengt mit Nahrungsbestandteilen massenhaft festsetzen, um von hier aus weiter zerstörend vorzudringen. Die Azidobakterien, die in der normalen Mundhöhle zurücktreten, aber sonst im Verdauungskanale vorkommen, treten nunmehr, da sie hier besonders günstige Verhältnisse vorzufinden scheinen, als die hauptsächlichsten Zerstörer harter Zahnsubstanz in den Vordergrund. Die Entkalkung, die durch Säurediffusion bewirkt wird, geht dem Einwandern der Bakterien und dem Zerfall der organischen Ueberreste voraus. Mehr oder weniger rasch dringt die Karies zur Schmelzdentingrenze vor. Nunmehr schieben sich die Bakterien in den Dentinröhrchen in der von Miller beschriebenen Gänsemarschform gegen die Pulpa vor, wobei die entkalkte Zwischensubstanz unter dem Druck der Bakterien mehr und mehr schwindet. Je nach Art der vorwiegend vorhandenen Säurebildner — ob Azidobakterien oder Streptokokken — und je nach Art der Abwehrerscheinungen wird sich auch das pathologisch-histologische Bild der Dentinkaries gestalten.

4. Gelegentlich gefundene andere Arten.

Unter den anderen Bakterien, die unseres Erachtens für die Karies von untergeordneter Bedeutung sind, haben wir verschiedentlich Mikrokokken, Hefen, Sarzinen und Sporenbildner aus kariösem Dentin gezüchtet. Sie waren nie sehr zahlreich und fanden sich nur in etwa ein Drittel der untersuchten Fälle. Nur der kleinere Teil der gefundenen Arten verflüssigte die Gelatine. Für die Feststellung der Mikrokokken war häufig die Beobachtung der lebenden Keime im hängenden Tropfen notwendig, da man manchmal zweifeln konnte, ob es sich um kurze Streptokokken oder Mikrokokken, bzw. Mikrokokken oder Sarzinen handelte. Auch Aussaaten des oberflächlichen, schmierigerweichten De-

tritus von 5 ausgezogenen, stark kariösen Zähnen ergaben kein wesentlich anderes Bild, als die aus den tieferen Schichten. Azidobakterien und Streptokokken waren auch hier in der Vorhand. In allen Proben wuchsen Streptokokken, in 4 Acb. lactis, davon 2mal in der Ueberzahl; in 2 Fällen außerdem vereinzelt Mikrokokken, in 2 weiteren Hefen in großer Zahl und einige Ansiedlungen von Oidium lactis.

Nur aus 4 von im ganzen 30 untersuchten kariösen Zähnen gingen bewegliche, gelatineverflüssigende Sporenbildner an. Es waren Vertreter aus der Heu- oder Kartoffelbazillengruppe. Sie zeigten sich nur auf den Plattenaussaaten, in der Leberbrühe wurden sie von den Säureerregern unterdrückt. Sie waren jeweils nur von einem einzigen Bohrstückchen aus gewuchert, dabei trat 2mal die häufig zu beobachtende Ueberwucherung der feuchten Agaroberfläche nicht ein. Es hatten die noch vorhandenen Acidobakterien diese sporenbildenden Erdkeime augenscheinlich in ihrer Entwicklung und Ausbreitung gehemmt. Es bestätigt diese Beobachtung und überhaupt der spärliche Befund an eiweißverflüssigenden Keimen in der Karies, die einen durch säurebildende Kleinwesen bedingten Entkalkungsprozeß darstellt, die von Kühl, Torrey und Kahn gemachte Feststellung, daß säurebildende Bakterien, vor allem der Bac. acidophilus, andere Keime, namentlich eiweißverflüssigende Sporenbildner, überwuchern und ihre verdauende Wirkung verhindern (s. S. 134).

Die zahlreichen, in den zahnärztlichen Lehrbüchern als „Dentinverflüssiger“ aufgeführten Keime, die vor allem bei der Nahrungsaufnahme von außen in die kariöse Höhle gelangen, spielen nur eine geringe Rolle bei der Auflösung der erweichten Zahnsubstanz. Es ist angebracht, daß die bisher vorhandenen Aufstellungen zum mindesten einer eingehenden Nachprüfung unterzogen werden. Bac. furvus, Bac. fuscus und Bac. plexiformis Goadby, ferner das Bacterium pyogenes gingivae Miller, die wir auf Grund der Beschreibungen heute nicht mehr wieder erkennen, können ruhig weggelassen werden. Das gilt vollends von dem Bac. gangraenae pulpae Arkövy, der, wie Sieberth am hiesigen Institut nachgewiesen hat, ein gemeiner Sporenbildner der Heu- oder Kartoffelbazillen ist. Unrichtig ist es ferner, den Bac. proteus Zenkeri unter den dentinlösenden Keimen aufzuführen, da er seinerzeit von Hauser als eine die Gelatine nicht verflüssigende Abart beschrieben wurde (siehe Heim, 5). Schon durch die Weglassung dieser, für den Zahnarzt irreführenden, für den Bakteriologen unsicheren Bakterienbezeichnungen, wird eine wesentliche Erleichterung des Verständnisses der Kariesbakteriologie eintreten.

Auf einen Gesichtspunkt, der im zahnärztlichen Schrifttum nicht einmal angedeutet ist, muß an dieser Stelle noch hingewiesen werden. Es erscheint höchstwahrscheinlich, daß Fusobakterien, Spirochäten und Spirillen, die sehr häufig in dem kariösen Detritus der oberflächlichen Schichten wuchern, an dem weiteren Abbau der organischen Reste beteiligt sind. Ihr Bedürfnis an organischen Stoffen, ihre Serophilie, ferner der Umstand, daß wir sie bei fast allen bakteriellen Nekrosen, auch außerhalb der Mundhöhle vorfinden, weisen darauf hin. In neuester Zeit ist es Reiter gelungen, den exakten Nachweis des Eiweißabbaues durch Mundspirochaeten zu führen, indem er im Gegensatz zur Spirochaeta

pallida Serumverflüssigung durch Reinkulturen der Spirochaeta dentium feststellte.

Neben dem Einfluß proteolytischer Keime kommen auch mechanische Einwirkungen in Frage. Schon in der kleinen, durch das Zusammenstürzen der entkalkten Schmelzprismen geschaffenen trichterförmigen Vertiefung setzen sich die Bakterien vermengt mit Mundschleim und Nahrungsbestandteilen fest. Ganz abgesehen von dem von oben und außen apikalwärts wirkenden Druck und der dauernden, oberflächlichen Bespülung mit Mundspeichel wirken auch die auf dem günstigen Nährboden sich stark vermehrenden Kleinwesen schon rein mechanisch im Sinne einer Erweiterung der Karieshöhle.

Außerdem müssen noch autolytische Vorgänge für die weitere Vergrößerung der kariösen Höhle verantwortlich gemacht werden. Erwähnenswert in dieser Hinsicht erscheint ein von Greve vor kurzem in der hiesigen physikalisch-medizinischen Gesellschaft gezeigter Fall, wo die Karieshöhle dicht mit Leukozyten besetzt war, die wir als die wichtigsten Beseitiger geschädigten Gewebes anzusehen haben. Doch scheinen Leukozytenansammlungen in der Karieshöhle nach unseren Erfahrungen im allgemeinen nicht sehr häufig zu sein; sie können vor allem bei akut entzündlichen Prozessen von der eröffneten Pulpenkammer aus in den kariösen Hohlraum eindringen; außerdem gelangen von der Mundhöhle aus zugleich mit abgestoßenen Epithelien auch Leukozyten in die Karieshöhle.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Tätigkeit der Keime mit proteolytischer Wirkung nur sekundär ist und für die Entstehung der Zahnkaries ebenso wenig Bedeutung hat, wie z. B. die in einem zerfallenem Krebsgewebe vorkommenden Fäulniserreger, die man trotz ihres Vorhandenseins doch nicht als die Erreger des Krebses ansehen kann (Heim, 3).

In ihrem Wesen und Wirken haben wir die Erreger der Zahnkaries in den hier beschriebenen, die harte Zahnsubstanz entkalkenden Säurebildnern kennen gelernt.

Welche äußeren und inneren Einflüsse den Boden für die durch diese Kleinwesen hervorgerufenen Zerstörungen bereiten, darüber ist noch nichts Sicheres bekannt.

Schlußsätze.

In den zahnärztlichen Lehrbüchern und Zeitschriften herrscht über die bei der Zahnkaries vorkommenden Kleinwesen erhebliche Verwirrung und Unklarheit.

Unsere Untersuchungen ergaben:

1) Es sind vor allem die Azidobakterien, insbesondere das Acb. lactis (Bac. necrodentalis) für die Entkalkung des Zahnbeins verantwortlich zu machen, doch dürfen auch die Streptokokken nicht außer acht gelassen werden. — 2) Schon nach dem bakteriologischen Bild kann zwischen rasch fortschreitender florider und langsam fortschreitender chronischer Karies unterschieden werden. Weitere Untersuchungen sind hierüber noch anzustellen. — 3) Die bei Karies, Pulpitis und Periodontitis gefundenen Streptokokken stammen aus der

Mundhöhle und gehören zu ihrer gewöhnlichen Flora. — 4) Unter den hier vorkommenden Streptokokken lassen sich sehr wohl verschiedene Arten unterscheiden. Sie sind weder gleich dem Strept. viridans, noch können sie einer Gruppe des Strept. lacticus Kruse zugerechnet werden. — 5) Ueber die Bedeutung der im Munde vorkommenden Anaërobier ist erst durch neuere Untersuchungen einige Klarheit geschaffen worden. Unter ihnen kommt den Fusobakterien eine Rolle beim Beginn der Zahnkaries zu. — 6) An Zahnschliffen erkennt man den Beginn der Schmelzkaries an einer meist keilförmigen Entkalkungszone. Die Entkalkung vollzieht sich auf dem Wege der Säurediffusion, die dem Einwandern der Bakterien vorausgeht. — 8) Für eine sichere Unterscheidung einzelner Keime eignen sich Zahnschliffe nicht. — 9) Eine Abwehrrolle gegen die Karies kommt dem Schmelzoberhäutchen nicht zu. — 10) Sporenbildner, Hefen, Sarzinen und Mikrokokken spielen als Dentinverflüssiger nur eine geringe Rolle. Neben ihnen kommen auch die anaëroben und serophilen Keime der Mundhöhle für den weiteren Abbau der organischen Reste der entkalkten Zahnsubstanz in Betracht — 11) Die bisherigen Aufstellungen über dentinlösende Keime können wesentlich vereinfacht werden. Die in den Lehrbüchern vorhandenen Namen sind teils irreführend, teils unrichtig. — 12) Auch mechanische und autolytische Einflüsse müssen für die Vergrößerung der Karieshöhle verantwortlich gemacht werden.

Erklärung der Textabbildungen.

Die Ansiedlungen sind durchweg bei 35facher, die Bakterien selbst bei 1000facher Vergrößerung aufgenommen.

Tafel I und II.

Fig. 1. Ansiedelungen aus ausgestrichenem Bohrstaub von „trockener" Karies auf Lackmustraubenzuckeragar nach 48stünd. Bebrütung. Es sind ausschließlich Streptokokken, wie sie gewöhnlich in der Mundhöhle vorkommen. Die voneinander verschiedenen entsprechen unseres Erachtens teilweise verschiedenen Streptokokkenarten (vgl. Fig. 10).

Fig. 2. Ansiedelungen aus kariösem Dentin von „feuchter Karies" auf Agar ohne Zucker nach 24 stünd. Bebrütung. Es sind ausschließlich welche von Acb. lactis (Bac. necrodentalis).

Fig. 3. Mehrmals überzüchtete Reinkultur des Acb. lactis auf Zuckeragar nach 48stünd. Bebrütung. Die zarten, granulierten Ansiedlungen ähneln denen gewisser Streptokokken.

Fig. 4. 11 Tage alte Reinzucht des Acb. lactis auf Gelatine bei Zimmertemperatur gewachsen. Ausgesprochen sind hier faserige oder hörnchenartige Ausläufer.

Fig. 5. Acb. lactis aus Karies, Abklatsch aus 3 Tage alter Blutagarplatte (Meerschweinchenblut). Gram-Färbung. Schlanke Stäbchen und Scheinfäden.

Fig. 6. Acb. lactis aus Karies, Ausstrich aus Nährbrühe ohne Zucker, nach 3tägiger Bebrütung. Gramfärbung. Streptokokkenform.

Fig. 7. Streptococcus lapillus aus Bohrstaub gezüchtet, Ausstrich aus einer 2 Tage alten Serumbrühekultur. Gramfärbung. Kleine Kokken in kurzen Ketten.

Fig. 8. Streptococcus lapillus aus Bohrstaub, Reinkultur auf Zuckeragar nach 2tägiger Bebrütung. Kleine, rundliche, undurchsichtige Ansiedelungen, wie Steinchen verstreut auf der Agaroberfläche.

Fig. 9. Mischansiedelungen von Streptokokken und Azidobakterien (Acb. lactis). Letztere waren mosaikartig erst nach 7 Tagen in der zweiten Ueberzüchtung aus den Streptokokkenkolonien herausgewachsen (S. 133).

Fig. 10. Ausstrich von Zungenbelag auf Lackmustraubenzuckeragar nach 3-tägiger Bebrütung. Von den mannigfaltigen im Munde vorkommenden Bakterienarten (Fig. 15) wachsen bei den gewöhnlichen Züchtungsmethoden vorwiegend Streptokokken. Die Ansiedelungen sind recht verschiedenartig und entsprechen unseres Erachtens teilweise verschiedenen Streptokokkenarten. Vgl. Fig. 1.

Fig. 11. Ausstrich aus Alveolarpyorrhoe. Gram-Färbung. Massenhaft Spirochäten, einige vibrionenähnliche Bakterien. In der Mitte großes Fusobakterium.

Fig. 12. Symbiose von kleinen Fusobakterien mit Streptokokken. Aussaat von Bauchfelleiter einer Maus, der 0,1 ccm Mundspeichel ip. eingespritzt war. Tod nach 16 Tagen. Ausstrich aus Nährbrühe nach 24stünd. Bebrütung. Gramfärbung.

Fig. 13. Bündel von Fusobakterien. Ausstrich aus der oberflächlichen Schicht einer mit Blut durchtränkten Stelle eines ausgezogenen Zahnes mit chronischer Periodontitis.

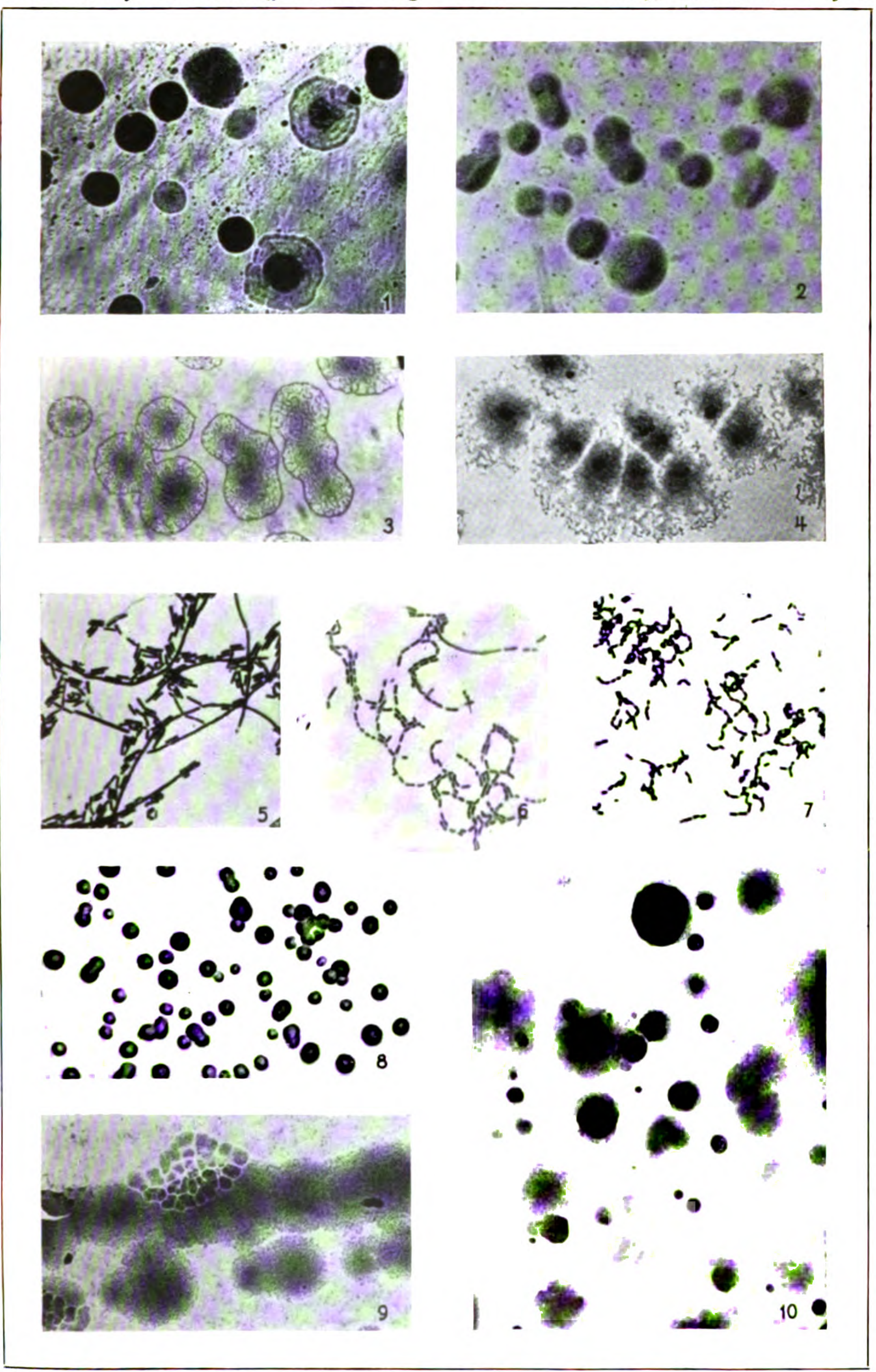
Fig. 14. Schmelzkaries der Fissurengegend, Zahnschliff hergestellt von Herrn Walter. Gramfärbung. Im Bereich der diagonal verlaufenden Zerfallszone einige kokkenähnliche Gebilde. Vergr. 1000fach.

Fig. 15. Ausstrich aus einer normalen Zahnfleischtasche. Gram-Färbung. Große und kleinere Fusobakterien, Diplokokken, Stäbchen und Vibrionen.

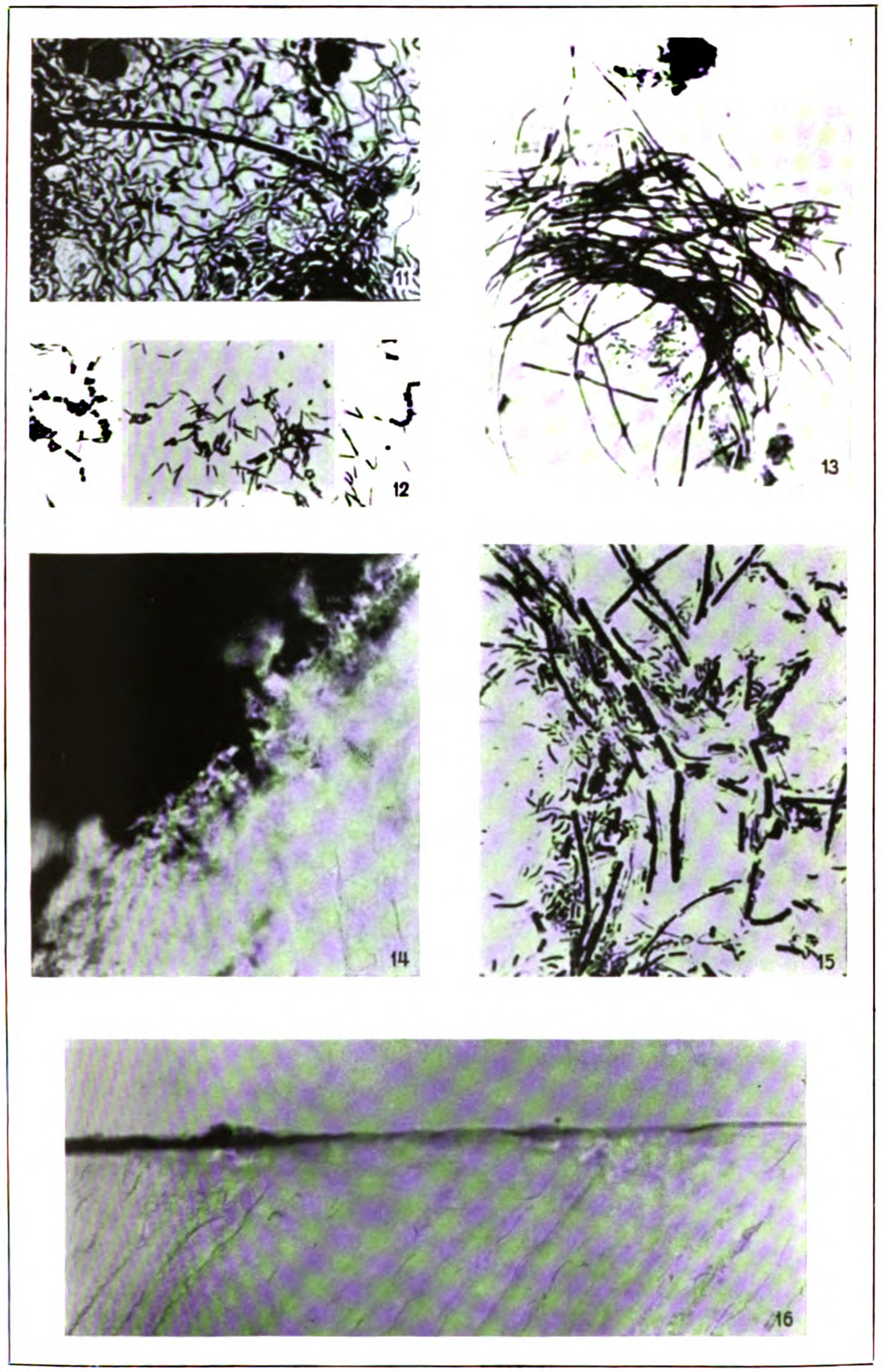
Fig. 16. Längsschliff von einem anscheinend gesunden Prämolaren mit beginnender Schmelzkaries, hergestellt von Herrn Walter. Gram-Färbung. Die Schmelzstruktur ist im Bereich der keilförmigen Entkalkungszone (rechts) aufgehellt und verwaschen. Vergr. 1000fach.

Schriftennachweis.

Baumgartner, Erich, Ueber das Wesen der Zahnkaries mit besonderer Berücksichtigung des gesunden und kariösen Zahnschmelzes. (Dtsch. Monatsschr. f. Zahnheilk. 1911. S. 321.) — Becker Josef, Untersuchungen über Zahnkariesstreptokokken und ihre Typenbildung. (Ibid. 1923. S. 308.) — Blessing, Georg, Bakteriologie des Mundes und der Zähne. (Handbibl. d. Zahnarztes. Bd. 4. S. 140.) Leipzig (Dyck) 1915. — Dechow, die Entdeckung eines Myzetozoons in der Mundhöhle des Menschen. (Zahnärztl. Rundsch. 1924. S. 588.) — Eckerlein, Ottmar, Säurebildende Kleinwesen, insbesondere Streptokokken aus dem Zungenbelag gesunder Menschen. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1921. — Ellermann, V., Einige Fälle von bakterieller Nekrose beim Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. S. 383.) — Euler, Lehrbuch der Zahnheilkunde, s. Port-Euler. — Gins, H. A., Biologie, Bakteriologie und Serologie. (Fortschr. d. Zahnheilkunde. 1925. S. 73.) — Goadby, Kenneth, W., Micro-Organisms in Dental Caries. (The Dental Cosmos. Vol. 42. 1900. p. 117—216, 311—324.) — Greve, H. Christian, Studien über den Beginn der Schmelzkaries. (Sitzungsber. d. phys.-med. Societ. Erlangen. Bd. 56. 1924.) — Hadley, Philip, The Bacteriology of Dental Caries. A Resume. (The Dental Cosmos. Vol. 66. 1924. p. 707—725.) — Hanazawa, Kanae, Eine histologische Studie über die Karies des Dentins. (Vierteljahresschr. f. Zahnhk. 1923. S. 417.) — Heim, Ludwig, 1) Lehrbuch der Bakteriologie. 6/7. Aufl. Stuttgart (Ferd. Enke) 1922; 2) Milchsäure- und andere Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101. 1923. S. 104); 3) Bakterien und Zahnkaries. (Sitzungsber. d. phys.-med. Soz. Erlangen. Bd. 54/55. 1924. S. 121.) 5) Zur Proteusdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. S. 81.) — Hilgers, W. E., Die Streptokokken der Zahnkaries. (Dtsch. Monatsschr. f. Zahnheilkunde. 1921. S. 357.) — Howe, P. R., and Hatch, R. E., A Study of Microorganisms of Dental Caries. (The Dental Cosmos. Vol. 59. 1917. p. 961.) — Hauser G., Die Fäulnisbakterien und deren Beziehungen zur Septikämie, s. Heim 5. — Kantorowicz, Alfred, 1) Bakteriologische und histologische Studien über die Karies des Dentins. (Zahnheilk. in Vorträg. H. 21.) Leipzig Gg. Thieme) 1911; 2) Klinische Zahnheilkunde. 1. Aufl. Berlin (H. Mäußer) 1924. — Kligler, zit. nach Hadley. — Knorr, Maximilian, 1) Beiträge zur Morphologie und Biologie einiger Mundanaëroben. [Inaug.-Diss.] Würzburg 1921; 2) Ueber die fusospirilläre Symbiose, die Gattung Fusobacterium (K. B. Lehmann) und Spirillum sputigenum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1922. S. 339; Bd. 89. S. 4.) — Kuczynski, M. H., u. Wolff, Er. K. 1) Streptokokkenstudien. (Berl. klin. Wochenschr. 1921. S. 794); 2) Weitere Untersuchungen über den Streptococcus viridans. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 92. 1921. S. 119.) — Kühl, Hugo, Die Milchsäurelangstäbchen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74. 1913. S. 384.) — Jung, Karl, 1) Untersuchungen über die Bakterien der Zahnkaries. [Inaug.-Diss.] Berlin 1892; 2) Die Bakterien der Zahnkaries in Scheffs Handbuch der Zahnheilkunde. Wien-Leipzig. Bd. 2. 1924. S. 177—182. — Mc. Intosh,



Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

James, and Warwick, James, The Bacterial Origin of Dental Caries. (The Lancet. p. 1183—1185. 1922.) — Kraskowska, L., u. Nitsch, R., Zur Morphologie der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. S. 264.) — Miller, W. D., Die Mikroorganismen der Mundhöhle. 2. Aufl. Leipzig (Gg. Thieme) 1892. — Mühlens, P., Ueber Züchtung von anaeroben Mikroorganismen der Mundhöhle (u. a. Spirillum sputigenum). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. S. 523.) — Naujoks, H., Das Vorkommen des Bacillus acidophilus bei Schwangeren und Gebärenden und sein zeitlicher und örtlicher Uebergang auf den Neugeborenen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 582.) — Port-Euler, Lehrbuch der Zahnheilkunde. 2. Aufl. Wiesbaden (I. F. Bergmann) 1915. — Reiter, Hans, Ueber Fortzüchtung der Spirochaeta pallida, Spirochaeta dentium und Spirochaeta recurrens. (Klin. Wochenschr. 1926. S. 444.) — Repaci, G., Compt. Rend. Soc. de Biol. 1909. p. 591; zit. nach Knorr, 1. — Scheff, Julius, Handbuch der Zahnheilkunde. Bd. 2. S. 177—182. Wien u. Leipzig 1924. — Schlirf, Karl, Zur Kenntnis der „azidophilen" Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. S. 104.) — Schnitzer, R., u. Munter, F., Ueber Zustandsänderungen der Streptokokken im Tierkörper. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 93. 1921. S. 96; Bd. 94. 1921. S. 107.) — Schottmüller, Hugo, Ueber die Artverschiedenheit der Streptokokken. (Münch. med. Wochenschr. 1924. S. 1009.) — Seitz, Arthur, 1) Bakteriologie für Zahnärzte. Berlin-Leipzig (Vereinig. wissensch. Verleger) 1922; 2) Die Differenzierung der Streptokokken der Mundhöhle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. Beih. S. 135—143. — Sieberth, Otto, 1) Die Mikroorganismen der kranken Zahnpulpa. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1900; 2) Zur Aetiologie der Pulpitis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. S. 910.) — Sperling, Hellmuth, Der Streptococcus lacticus (Kruse) in seiner Beziehung zur Zahnkaries. (Dtsch. Monatsschr. f. Zahnheilk. 1922. S. 129.) — Torrey u. Kahn, zit. nach Heim, 3. — Walter, Max, Studien über den Beginn der Schmelzkaries. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1925. — Williams, L., Bacteries on the external enamel of teeth. (Dental Cosmos. Vol. 40. 1898. p. 503.) — Würcker, Karl, Ueber Anaerobiose, zwei Fäulniserreger und Bac. botulinus. (Sitzungsber. d. phys.-med. Soz. Erlangen. Bd. 41. 1909. S. 209.)

Studien über Hühnerpest.

II. Mitteilung[1]): Beiträge zur Kenntnis der histologischen Veränderungen im Zentralnervensystem.

[Aus dem veterinär-pathologischen Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. W. Frei).]

Von Privatdozent Dr. **W. Pfenninger** und **Z. Finik.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die uns zurzeit bei Hühnerpest zur Verfügung stehenden diagnostischen Methoden befriedigen insofern wenig, als der Uebertragungsversuch auf ein Huhn, auf den wir hierbei angewiesen sind, die Sicherung der Diagnose erst nach 2—4, oder, wie in einzelnen uns zur Beobachtung gekommenen Fällen, erst nach 6 Tagen erlaubt. Es schien uns deshalb im Laufe unserer Untersuchungen wichtig, die Frage zu prüfen, ob die von verschiedenen Autoren bei Hühnerpest angegebenen Gehirnveränderungen konstant angetroffen werden und ob die histologische Untersuchung imstande wäre, die Diagnosestellung in Verdachtsfällen zu beschleunigen, oder, zum mindesten im positiven Falle, ähnlich wie bei der Tollwut, den Tierversuch zu ersetzen.

1) 1. Mitteilung: Die natürliche und die experimentelle Infektion. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 68. 1926. S. 2.)

Als erster hat Kleine 1905 bei Gänsen, die unter nervösen Symptomen an experimenteller Hühnerpest eingegangen waren, bei Anwendung der Mannschen Färbung, Körperchen feststellen können, die mit den Negrischen Wutkörperchen eine gewisse Aehnlichkeit hatten. Weitere Veränderungen im Gehirn von Pesthühnern, ähnlich den Alterationen von an Straßenwut eingegangenen Menschen und Tieren, hat Rosenthal beschrieben, in Form von herdförmigen, perivaskulären Zellanhäufungen. Die von Kleine gesehenen Körperchen werden von Schiffmann, welcher sie ebenfalls in Großhirnschnitten infizierter Gänse fand, genau beschrieben; außerdem hat dieser Autor auch perivaskuläre Infiltrate gefunden; die Körperchen hat er bei normalen Kontrollgänsen und bei an Pest eingegangenen Hühnern nicht feststellen können, hingegen sah er bei letzteren regelmäßig Infiltrate und sog. Gewebsnekrosen. Nach der Beschreibung von Schiffmann unterscheiden sich seine Hühnerpestkörperchen von Negrischen Körperchen dadurch, daß sie weniger scharf darstellbar und stets nur in der Einzahl in einer Ganglienzelle vorhanden sind. Bei experimentell infizierten Gänsen hat dieser Autor die Körperchen neben der Infiltration in 120 bzw. 144 Std. post infectionem auftreten sehen; sog. Gewebsnekrosen beobachtete er bei einem Huhn, das 48 Stunden nach der Infektion getötet worden war. Einschlußkörperchen haben auch Kraus und Schiffmann bei Gänsen gefunden, nicht aber bei Hühnern. Ottolenghi hat in einer eingehenden Studie dargetan, daß die sog. Kleineschen Körperchen, wie sie von Schiffmann beschrieben wurden, als Produkte einer in den Ganglienzellen sich abspielenden Karyolyse aufzufassen seien; bei Hühnern hat er den Lentzschen Passagewutkörperchen ähnliche Gebilde gesehen, die ebenfalls als Zeichen degenerativer und nekrobiotischer Alterationen anzusehen sind, an deren Bildung auch das Zytoplasma beteiligt ist und die nach seiner Auffassung von Neurogliazellen, oder auch von Leukozyten abstammen können. Außer bei Gänsen hat dieser Autor die Kleineschen Körperchen bei Tauben, neben perivaskulären Infiltrationsherden, experimentell zu erzeugen vermocht. Prowazek hat in Zupfpräparaten aus Vorderhirn, Wurm und Nachhirn pestinfizierter Hühner weitere, nach Giemsa rosagelb färbbare Körperchen von 1—1,5 μ Durchmesser und ganz kleine, dunkelrot färbbare Körnchen beschrieben und Miyaji hat im Rückstand von Ultrafiltraten aus Hühnerpestmaterial feinste Körperchen beobachtet und analoge Granula in Gehirnschnitten, dagegen sah er bei Hühnern nie irgendwelche Einschlüsse und nach seinen Untersuchungen scheint das Hühnerpestvirus nicht in die Gruppe der Chlamydozoen zu gehören. Rhoda Erdmann hat die von Kleine und Schiffmann bei Gänsen beschriebenen Körperchen bei Hühnern nicht finden können, dagegen konstatierte sie in nach Schiffmann gefärbten Schnitten perivaskuläre Infiltrate, nebst reichlichen degenerierten Kernen von Ganglien- und Gliazellen und zahlreiche Kerne von solchen, welche ihres Protoplasmakörpers verlustig gegangen waren; diese Kerne widerstehen nach der Autorin den schädigenden Einflüssen des Virus am längsten. Die neuesten Untersuchungen sind, soweit wir die Literatur übersehen können, von Joest ausgeführt worden, welcher Hühnerpestkörperchen bei Hühnern ebenfalls nicht nachweisen konnte, welcher aber die erstmals von Rosenthal erhobenen histologischen Befunde bestätigte. Bei 15 experimentellen und mehreren spontanen Fällen bei Hühnern hat er, insbesondere bei langsamer verlaufender Erkrankung, eine disseminierte, nicht eitrige Encephalitis mit Infiltraten um die Gefäße herum und im Gewebe, und außerdem Hypertrophie und Hyperplasie der Endothelien und der Adventitia der Gefäße und Ganglienzelldegenerationen feststellen können.

Eigene Untersuchungen.

Das vorliegende Material entstammt zum Teil Fällen von natürlicher Erkrankung, die uns von Hühnerpestausbrüchen im Jahre 1925 eingeliefert worden waren, zum Teil künstlich infizierten Tieren. Es wurden 8 spontane und 17 experimentelle Fälle verarbeitet. Als Kontrollmaterial dienten die Gehirne von 4 normalen Hühnern, einer normalen Taube und einer normalen Gans. Des ferneren wurde in die Untersuchungen einbezogen das Gehirn je eines zufolge Schockwirkung, an Gicht und an Hühnercholera eingegangenen Huhnes und einer Taube, welche einer Rotlaufinfektion erlegen war.

Bezüglich der Technik bemerken wir, daß die Gehirnpräparate, möglichst bald nach dem Tode der Tiere, in 5proz. Formalinlösung gehärtet und hierauf in Paraffin eingebettet wurden. Die durch Groß- und Kleinhirn angefertigten Sagittalschnitte färbten wir nach verschiedenen Methoden. Außer der gewöhnlichen Hämato-

xylin-Eosinfärbung kamen, speziell für den Nachweis eventueller Einschlußkörperchen, die Methoden nach Mann, Lentz und Schiffmann, in einzelnen Fällen außerdem die Färbung nach Stutzer und die Borax-Methylenblaufärbung nach Jadassohn in Anwendung.

Es interessierte uns zunächst die Frage nach dem Vorhandensein der verschiedentlich bei Hühnerpest beschriebenen Einschlußkörperchen. Unter Anwendung der angegebenen Färbeverfahren ist es uns in keinem der Fälle geglückt, weder in Ganglienzellen des Großhirns und des Kleinhirns noch sonst im Gewebe Elemente festzustellen, welche zufolge ihrer besonderen Färbbarkeit als Einschlußkörperchen angesprochen werden könnten. Dagegen haben wir, namentlich in Gehirnen mit anderweitigen ausgeprägten histologischen Veränderungen, besonders bei Anwendung der Schiffmannschen und Lentzschen Färbung, in Großhirnganglienzellen und auch in Purkinjeschen Zellen eine Fragmentierung der Kerne feststellen können, wie sie in den verschiedenen Stadien der Karyolysis gesehen werden. Das Chromatin solcher Kerne ist in einem Teil der Fälle in mehr oder weniger scharf abgegrenzten Klumpen angeordnet, und wir beobachteten Bilder, die sehr ähnlich sind denen, welche Ottolenghi in seiner Arbeit wiedergibt. Derartige Erscheinungen finden sich häufig in Ganglienzellen in der Nähe von Gewebsinfiltraten; Chromatinschollen sind gelegentlich nicht nur im Kerninnern, sondern frei im Protoplasma zu sehen, und oft konstatiert man degenerierte Ganglienzellkerne, die ihr Protoplasma teilweise oder ganz verloren haben, so daß nur noch einzelne Kernreste übrig geblieben sind. Bei der Färbung nach Lentz nehmen die Ganglienzellkerne oft eine rötliche Tinktion an, doch haben wir dasselbe auch bei einzelnen normalen Hühnergehirnen gesehen; auch diese Eigentümlichkeit läßt auf degenerative Prozesse schließen. Doch ist es wahrscheinlich, daß physiologischerweise, insbesondere bei älteren Tieren, ein Untergang dieser Zellelemente vor sich geht und degenerative Erscheinungen nur bei stärkerer Ausdehnung als pathologisch gedeutet werden können[1]).

Größere Bedeutung als diesen degenerativen Prozessen an den Ganglienzellen, die wir in größerer Ausdehnung nur in 6 von den 25 Fällen beobachten konnten, möchten wir den vaskulären Veränderungen beimessen. Sie bestehen in Verbreiterung der Wände einzelner Gefäße, zelliger Infiltration derselben und deren unmittelbarer Umgebung. Die Gehirngefäße von an Hühnerpest gefallenen Tieren erscheinen durchschnittlich stark angefüllt und erweitert; besonders die Zellen der Media, weniger der Adventitia und des Endothels, sind häufig stark gewuchert, und die Gefäßwände erscheinen aufgelockert. Es finden sich an solchen Stellen zahlreiche fibroplastenähnliche Kerne keulen- oder doppelkeulenförmiger Gestalt, die ganz unregelmäßig gelagert sind und zum Teil verminderte Färbbarkeit aufweisen. Außerdem sind oft, in mehr oder weniger großer Zahl, Lymphozyten und reichlich epitheloide Elemente mit bläschenförmigen Kernen, die vermutlich der Intima und der Adventitia entstammen, in solchermaßen veränderte Gefäßwände eingelagert; deutliche eosinophile Zellen (Joest) konnten wir nur vereinzelt beobachten. Die zellige Infiltration betrifft häufig nur die Wand selbst, weniger zahlreich sind die Fälle, wo auch

1) Derartige Veränderungen sind, neben Pigmenteinlagerung, außer beim Menschen, bei den verschiedensten Tierarten, auch bei Vögeln, und z. T. in relativ frühen Lebensstadien, beschrieben worden (Metchnikoff u. a.).

gleichzeitig die Umgebung infiltriert ist; deshalb beschränkt sich die Infiltration auf einen schmalen Saum der Adventitia entlang (Fig. 1). Eine deutliche perivaskuläre zellige Infiltration konnten wir nur bei drei spontanen und einem experimentellen Pestfall feststellen, Veränderungen der Gefäßwände mit Infiltration derselben dagegen bei den 17 experimentellen Fällen 11mal und bei den 8 spontanen Fällen 7mal.

Die auffälligsten histologischen Veränderungen an Hühnerpestgehirnen, die bereits von Schiffmann als Nekrosen beschrieben worden sind, fanden wir bei unseren experimentellen Fällen 9mal, bei den spontanen 3mal, mehr oder weniger ausgeprägt, vor. Diese Läsionen sind sehr häufig in unmittelbarer Nähe von Blutgefäßen anzutreffen und treten bei schwacher Vergrößerung als stärker gefärbte herdförmige Gewebskomplexe von verschiedener Ausdehnung und gewöhnlich runder Form in Erscheinung. Die Anfangsstadien imponieren als kaum wahrnehmbare Agglomerationen weniger Zellen mit feinkonturiertem, bläschenförmigem Kern, der im Innern einzelne, feine Chromatinkörnchen enthält; diese Zellen sind wahrscheinlich lymphozytärer Natur, obwohl sie, wie auch Joest angibt, mit den hyperplastischen Gefäßwandzellen große Aehnlichkeit haben. In deutlicher ausgeprägten Herdchen finden sich solche Zellen dicht zusammengelagert, einzelne von ihnen erweisen sich schlecht färbbar, oft sind sie zum großen Teil degeneriert, und insbesondere ist dann die Grundsubstanz diffus rot-blau verfärbt (Schiffmann-Färbung) und einer Art scholliger Degeneration anheimgefallen. Die intensivste Tinktion weist das Zentrum solcher Herdchen auf, und hier finden sich nicht selten unregelmäßige Kontinuitätstrennungen oder Lücken im Gewebe vor. Außer den genannten lymphozytären Elementen fallen in Schiffmann-Präparaten Zellen mit stärker färbbaren Kernen und oft radspeichenähnlicher Innenstruktur auf, die als Plasmazellen anzusprechen sind. Weitere vereinzelt vorkommende Zellen mit hellem Kern und Resten von Protoplasmafortsätzen können am besten als degenerierte Gliazellen gedeutet werden [1]).

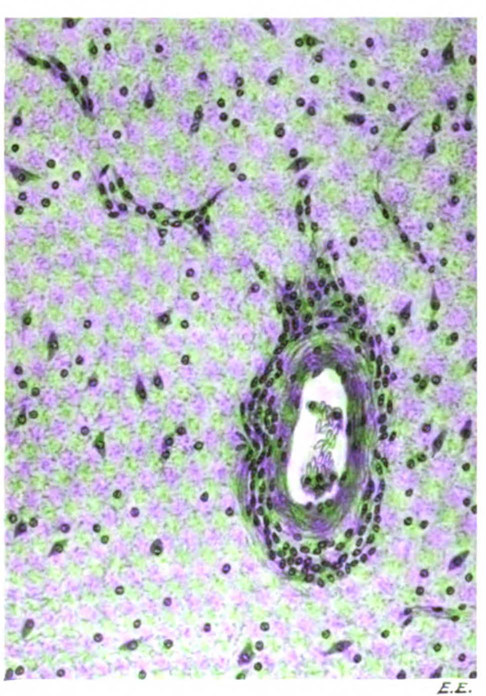


Fig. 1. Ausgeprägte, perivaskuläre Infiltration; spontaner Hühnerpestfall (Hämatoxylin-Eosin-Färbung).

1) Die sichere Erkennung der Art dieser Zellelemente, die oft schwer von den Infiltratzellen zu unterscheiden sind, wäre nur möglich, wenn es gelänge, die Fasern mit einer geeigneten Methode, ähnlich wie beim Menschen (Weigertsche Färbung),

Oft finden sich in der Nähe dieser Gewebsdefekte Ganglienzellen mit Degenerationserscheinungen am Kern, oder aber Kerne, die nur noch Reste ihrer Protoplasmamasse aufweisen neben frei im Gewebe liegenden, mit Kernfarbstoffen lebhaft färbbaren Kernresten. Die Herdchen sind hauptsächlich im Großhirn und Mittelhirn, etwas spärlicher im Kleinhirn, anzutreffen. Diese verschieden stark ausgeprägten Alterationen haben wir in mehreren Fällen im gleichen Präparat nebeneinander vorgefunden; es scheint, daß die Nekrose das Endstadium der herdförmigen zelligen Infiltration darstellt (Fig. 2).

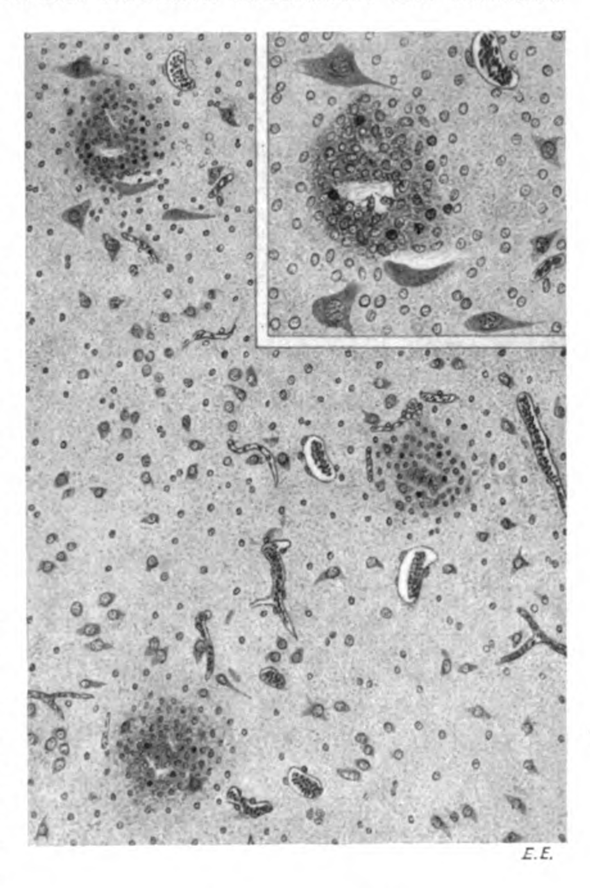


Fig. 2. Verschiedene Stadien herdförmiger Infiltration mit zentraler Nekrose und teilweiser Ganglienzelldegeneration in der Nähe der Herdchen, ein Herdchen vergrößert dargestellt; experimenteller Fall (Pyronin-Methylgrünfärbung nach Schiffmann).

In einzelnen Fällen tritt bei Hühnerpest eine leichte diffuse zellige Infiltration der Gehirnsubstanz ein; wir konstatierten eine solche 4mal bei den experimentellen und 3mal bei den spontanen Fällen.

Bei allen den genannten infiltrativen Prozessen fehlen leukozytäre Elemente vollständig, ebenso scheinen Erythrozyten sehr selten vorzukommen; die Prozesse sind als Encephalitis von ausgesprochen lymphozytärem Typus zu definieren. Die Häufigkeit der Veränderungen ist in der folgenden Tab. (S. 150) dargestellt.

In den untersuchten Gehirnen von normalen Vögeln und solchen, die zufolge anderer Ursachen als Hühnerpest eingegangen waren, konnten wir ähnliche Veränderungen wie bei den Pesthühnern in keinem Fall feststellen.

Ueber die Abhängigkeit der histologischen Veränderungen des Zentralnervensystems vom makroskopischen

---

färberisch gesondert zur Darstellung zu bringen. Es scheint uns, daß der Großteil der Zellen mit hellem Kern doch lymphozytären Ursprungs ist; ausgedehnte Gliawucherungen innerhalb der kurzen Zeiträume, wie sie bei Hühnerpest in Betracht kommen (s. u.), halten wir nicht für wahrscheinlich.

Tabelle I.

	Gefäßveränderungen	Herdförmige Infiltration u. Nekrosen	Diffuse Infiltration	Ganglienzelldegeneration	Perivask. Infiltration	Total-untersucht
Experimentelle Fälle	11	9	4	4	2	17
Spontane Fälle	8	4	3	2	3	8
zusammen	19	13	7	6	5	25
Proz.-Zahlen	76	52	28	24	20	.

Sektionsbefund läßt unser Material folgendes feststellen. Ein strenger Parallelismus zwischen der Ausdehnung beider Arten von Veränderungen besteht nicht. Mehrfach haben wir bei typischem makroskopischem Befund recht geringe Gehirnveränderungen gesehen (Fall 281), während andererseits bei relativ wenig ausgeprägtem Sektionsbefund zahlreiche und typische Gehirnläsionen vorhanden sein können (Fall 653). Das gilt sowohl für die experimentellen als auch für die spontanen Fälle. Die Menge des zur Infektion verwendeten Virus scheint für die Ausdehnung der Gehirnalterationen nicht bestimmend zu sein; sowohl letale Grenzdosen, als auch sehr massive Infektionen können verschiedene Grade von Gehirnveränderungen hervorrufen. Eine bestimmte Beziehung zwischen Dauer der Erkrankung bzw. der Inkubation und Ausdehnung der histologischen Veränderungen existiert, wie unsere experimentellen Fälle zeigen, ebenfalls nicht. Typische und ausgedehnte Gehirnveränderungen haben wir z. B. bei Tieren beobachtet, die $46^1/_2$ Std. nach der Infektion eingegangen sind, währenddem ein Huhn, das nach $128^1/_2$ Std. starb, nur mäßige Alterationen darbot. Im allgemeinen sind aber bei Tieren, die in kurzer Zeit an Hühnerpest eingehen, weniger ausgedehnte und weniger typische Veränderungen nachweisbar, als bei solchen mit protrahiertem Krankheitsverlauf. Herdförmige Infiltrate und Nekrosen haben wir aber doch in relativ kurzer Zeit entstehen sehen und bei Tieren festgestellt, die nach $38^1/_2$, 43, 45 und 46 Std., mit den respektiven Inkubationszeiten von 25, 31, 20 und 26 Std., eingegangen sind. Die folgende Tabelle gibt den Zusammenhang zwischen histologischem Befund und den ebengenannten Faktoren für unsere experimentellen Fälle, bei welchen wir genauere anamnestische Angaben machen können, mit den Details wieder (s. Tabelle II, S. 151).

Diskussion. In Bezug auf die sogenannten Ganglienzelleinschlüsse sind unsere Befunde in Uebereinstimmung mit denen der meisten Autoren. Solche Gebilde sind mit Sicherheit bei Hühnern bis jetzt nicht festgestellt worden. Nach der Definition von B. Lipschütz ist die Einschlußbildung als Reaktion auf das Eindringen und die intrazelluläre Vermehrung des ursächlichen Agens aufzufassen, das Auftreten dieser Einschlüsse erfolgt gewebs- und zelltopographisch und zeitlich gesetzmäßig; neben azidophilen sind auch basophile Einschlüsse gesehen worden. Zufolge ihres komplizierten Aufbaues werden sie allgemein von den einfachen Degenerationsprodukten der Zellen unterschieden, und neuerdings besteht die Tendenz, sie als bestimmte Formen des Entwicklungszyklus der filtrierbaren Erreger zu deuten. Schon Kleine hat die Vermutung geäußert, daß es sich bei seinen Körperchen, die er bei Gänsen gesehen hatte, und die nach seiner Ansicht mit Negri-Körperchen eine gewisse Aehnlichkeit hatten, um Zellkerne handelte,

Tabelle II.

Nr. des Tieres	Bezeichnung und Dosis[1]) des Virus	Inkubationszeit	Infektionsdauer	Anzahl der typisch-makroskopischen Veränderungen	Histologische Befunde im Gehirn
272	W. 1 ccm 1 : 100 000	26h	46½h	11	Beginnende Herdbildung, einzelne Nekrosen, zahlreiche Ganglienzellendegenerationen.
279	S. 1 ccm 1 : 100 000	—	65½h	10	Verdickte Gefäßwände, starke Mediawucherung, stellenweise diffuse Infiltration.
281	S. 1 ccm 1 : 1 000 000	118½h	128½h	12	Infiltration der Gefäßwände.
653	S.	4 Tg.	17 Tg.	8	Starke Verdickung und Infiltration d. Gefäßwände; Herdchenbildung und vereinzelt Nekrosen im Groß- und Kleinhirn; leichte diffuse Infiltration. Ganglienzellendegenerationen.
658	W.	31h	43h	14	Gefäßwandverdickungen, vereinzelte Herdchen im Großhirn.
659	W.	20h	45h	15	Vereinzelte Nekroseherdchen im Großhirn, Ganglienzellendegenerationen.
660	W.	—	44h	7	Auflockerung und Infiltration der Gefäßwände.
661	W.	—	48h	8	Ganglienzellendegenerationen; beginnende Herdchenbildung, stellenweise diffuse Infiltration im Großhirn; perivask. Infiltration.
662	W.	—	42h	12	Herdchen u. Nekrosen im Großhirn.
663	W.	—	44h	6	Auflockerung und Infiltration der Gefäßwände; vereinzelt beginnende Herdchenbildung.
664	W.	—	45h	10	Keine hist. Besonderheiten.
665	W.	—	41h	9	Verdickung der Arterienwände.
696	W.	—	36h	13	Stellenweise Verdickung der Arterienwände.
697	W.	—	57h	16	Infiltration und starke Verbreiterung der Gefäßwände.
J 1	R.	25h	38½h	10	Verdickung und Infiltration der Arterienwände.
J 1	T.	—	47h	15	Beginnende Herdchenbildung.
J 3	Ch.	—	6 Tg.	10	Leichte diffuse und starke vask. und perivask. Infiltration; zahlreiche Nekroseherdchen.

die infolge pathologischer Vorgänge ihre normale Färbefähigkeit eingebüßt haben. Schiffmann, der die Körperchen genauer beschrieben hat, gibt zuerst an, daß sich dieselben vielfach frei im Gewebe, mitunter auch in den perivaskulären Zellanhäufungen und zum Teil in den

1) Wo Dosen nicht angegeben sind, handelt es sich um massige Infektionen mit 0,5—1 ccm Gehirnemulsion oder 0,5 ccm Blut.

Ganglienzellen vorfinden, welch letztere dann nur in vereinzelten Fällen einen Kern aufweisen. In seiner späteren Arbeit gibt dieser Autor an, daß bei intrazellulärer Lagerung des Körperchens neben demselben ein Kern oder Kernreste mit Sicherheit nicht konstatiert werden können, und daß stets nur ein Körperchen in einer Zelle vorhanden sei. Es scheint uns hierbei wichtig, daß, worauf zahlreiche Autoren Gewicht legen, die echten Einschlüsse, wie Negri-Körperchen bei Wut und die Joestschen Einschlußkörperchen bei der Bornakrankheit, im allgemeinen in normalen Ganglienzellen vorkommen, während die Schiffmannschen Hühnerpestkörperchen anscheinend eine tiefgehende Zell- bzw. Kerndegeneration voraussetzen. Es besteht deshalb große Wahrscheinlichkeit, daß diese letzteren, die sich anscheinend auch färberisch wenig different verhalten, nichts anderes sind, als in gewöhnlichem Sinne degenerierte Ganglienzellkerne.

Daß diese Gebilde degenerierten Kernen von Ganglienzellen entstammen, haben die Untersuchungen von Ottolenghi mit ziemlicher Sicherheit erwiesen, und danach wären sie als Stadien einer Kariolyse zu deuten; dieser Autor ist zwar geneigt, auf Grund einiger färberischer Besonderheiten diese Degenerationserscheinungen nicht als durch Toxine hervorgerufen anzusehen, sondern eine aktive Beteiligung des ursächlichen Virus an diesen Gebilden anzunehmen; diese Annahme ist aber durchaus unbewiesen.

In diagnostischer Hinsicht bedeutungsvoller als die Ganglienzelldegeneration sind die übrigen histologischen Veränderungen, insbesondere die proliferativen in den Gefäßwandschichten und die zellige Infiltration, die aber gewöhnlich nicht sämtliche Gefäße betrifft, sondern zirkumskript auftritt. Diagnostisch recht gut verwertbar sind die herdförmigen Infiltrationen mit Nekrosebildung, die als für Hühnerpest pathognomonisch angesehen werden können, da ähnliche Erscheinungen unseres Wissens bisher im Gehirn von Hühnern bei anderen Affektionen nicht konstatiert worden sind. Weniger markant ist die diffuse Infiltration und relativ selten eine deutliche perivaskuläre Infiltration. Wenn die genannten Alterationen zusammen angetroffen werden, so ergibt sich eine recht hohe Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von Pest. Von Wert erscheint uns die histologische Untersuchung in den Fällen, wo die makroskopischen Veränderungen nicht typisch sind oder fehlen; hier kann die histologische Diagnose eine brauchbare Ergänzung sein, weil die Läsionen des Zentralnervensystems, wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich ist, auch in solchen Fällen oft ausgeprägt sind.

Zusammenfassung.

Die histologischen Untersuchungen der Gehirne von 8 spontanen und 17 experimentellen Hühnerpestfällen bei Hühnern ergaben:

1) Das Fehlen von Einschlußkörperchen; dagegen wiesen 6 von den 25 Tieren Degenerationserscheinungen an den Ganglienzellen auf. — 2) Gefäßveränderungen in Form von Auflockerung und Wucherung der Media und Proliferation des Endothels und der Adventitia; diese Veränderungen konstatierten wir 8mal bei den spontanen und 11mal bei den experimentellen Fällen; eine deutliche perivaskuläre zellige Infiltration fanden wir 1mal bei den spontanen und 3mal bei den experimentellen Pesthühnern. — 3) Eine diffuse zellige Infiltration der

Gehirnsubstanz, und zwar 4mal bei den experimentellen und 3mal bei den spontanen Fällen. — 4) Herdförmige Infiltrationen und Nekrosen, und zwar 9mal bei den künstlich infizierten und 4mal bei den zufolge der natürlichen Infektion eingegangenen Hühnern. Die histologischen Veränderungen sind als typische lymphozytäre Encephalitis mit Tendenz zu Herdbildung mit anschließender Nekrose zusammenzufassen. Die Ausdehnung dieser Prozesse entspricht nicht derjenigen der makroskopischen Veränderungen, und ebenso ist sie nicht proportional der Dauer des Krankheitsverlaufes und der Inkubation. Solche Veränderungen können schon bei $38^1/_2$ Std. nach der Infektion eingegangenen Pesthühnern gefunden werden.

Literatur.

1) Kleine, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 51. 1905. S. 177. — 2) Rosenthal, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. S. 204. — 3) Schiffmann, Wien. klin. Wochenschr. Bd. 19. 1906. S. 1347; und Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. S. 393. — 4) Kraus u. Schiffmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. S. 825. — 5) Prowazek, Münch. med. Wochenschr. Bd. 55. 1908. S. 165. — 6) Ottolenghi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. S. 510. — 7) Miyaji, Ibid. Bd. 74. 1914. S. 540. — 8) Rhoda Erdmann, Arch. f. Protistenkde. Bd. 41. 1920. S. 190. — 9) Joest, Spez. path. Anat. d. Haustiere. Bd. 2. S. 561. Berlin 1921.

Ein Borstenwurm (Oligochät) als angeblicher Insasse des menschlichen Körpers.

Von Prof. Dr. R. **Heymons**, Berlin.

Vor einiger Zeit wurde mir von einem in Berlin praktizierenden Arzt ein lebender Wurm gebracht, der nach Aussage des Arztes von einem seiner Patienten stammte, welcher den Wurm am vorhergehenden Morgen von sich gegeben hatte. Der weißlichgrau aussehende, etwa 10 mm lange Wurm befand sich in einer kleinen, mit trübem Wasser gefüllten Flasche. Erst bei mikroskopischer Betrachtung ließ sich daher feststellen, daß es sich um einen Oligochäten, vermutlich aus der Familie der Enchyträiden, handelte. Die kleinen, in segmentalen Borstentaschen stehenden Borsten waren deutlich erkennbar. Der Darmkanal, mit intersegmentalen Einschnürungen versehen, zeigte sich mit einer dunklen, aus winzigen Partikelchen bestehenden Masse erfüllt, so daß das Tier vor jedenfalls nicht sehr langer Zeit Gelegenheit zur Nahrungsaufnahme gefunden haben mußte. Die Blutgefäße enthielten eine gelbliche, hämoglobinhaltige Flüssigkeit. An den Geschlechtssegmenten traten die Ausführapparate der männlichen Organe stark hervor. Die Körperbewegungen des in einem Tropfen Wassers untersuchten Wurmes waren lebhaft, kein Zweifel, daß das Tier vollständig lebensfrisch war. Da eine genauere Bestimmung ohne weiteres nicht möglich erschien, wurde der Wurm zunächst in einen kleinen Behälter mit reinem, aus der Wasserleitung entnommenen Wasser gebracht, in dem er bis

zum nächsten Tage verblieb, ohne daß sich an ihm Veränderungen zeigten. Anscheinend hatte das Tier aber inzwischen etwas von seinem Darminhalt durch den After entleert, denn auf dem Boden des Behälters befanden sich jetzt kleine dunkle Partikelchen, über deren Natur ich jedoch nichts Sicheres aussagen kann. Das Tier ist sodann fixiert worden und wurde hernach von Herrn Prof. Michaelsen in Hamburg, dem ausgezeichneten Kenner der Oligochäten, der die weitere Untersuchung freundlichst übernahm, als der Enchyträide Pachydrilus lineatus Müll. (= Lumbricillus lineatus O. F. Müll.) bestimmt.

So nahe die Vermutung lag, daß der Wurm gar nicht aus dem Menschen stamme, und der Patient nur das Opfer einer Täuschung geworden war, so hat dem doch der Arzt auch bei wiederholtem Befragen immer auf das bestimmteste widersprochen und jede beabsichtigte oder unbeabsichtigte Irreführung von seiten des Patienten für gänzlich ausgeschlossen erklärt. Letzterer, der den gebildeten Ständen angehört, sich in angesehener Stellung befindet und eine gut eingerichtete Wohnung des Berliner Westens bewohnt, hatte bereits, wie der Arzt mitteilte, vor etwa 2 Wochen einen gleichen Wurm, der alsdann vom Arzt untersucht worden war, von sich gegeben. Beide Male sei dies des Morgens geschehen, und zwar sei beim Gurgeln ein Wurm zusammen mit Schleim in ein ungefülltes Waschbecken entleert worden. Der zweite Wurm, der wie der erste nach dem Ausspeien an der Wand des Beckens hängen blieb und dort erst durch seine Bewegungen auffiel, ist mir dann überbracht worden. Das mit Wasserabfluß versehene Porzellanbecken sei stets sauber und rein gehalten worden, auch hätte man es nie für andere Zwecke als zum Waschen und Reinigen des Körpers benutzt, so daß ein zufälliges Hineinkommen der Würmer, etwa beim Abspülen oder Abwaschen irgendwelcher Gegenstände, unmöglich sei. Da das Waschbecken mit Wasser der Charlottenburger Wasserwerke gespeist wird, in dem meines Wissens tierische Organismen niemals beobachtet sind, muß auch ich es für ausgeschlossen halten, daß die Würmer mit dem zuströmenden Wasser in das Becken gelangt sind. Weitere Würmer haben sich in der Folge nicht mehr gezeigt, wenigstens ist mir hierüber nichts bekannt geworden. Der Patient, der sich ganz besonders nach dem Erscheinen eines zweiten Wurmes stark beunruhigt zeigte, erhielt ein kräftiges Wurmmittel. Die von dem Arzte daraufhin vorgenommene Untersuchung der Fäzes nach etwaigen Würmern oder Wurmresten ist jedoch ergebnislos geblieben. Dies der Tatbestand, soweit er auf Grund der mir gemachten Angaben oder durch die erwähnten Untersuchungen als gesichert angesehen werden kann.

Ich würde kaum Veranlassung genommen haben, über den vorliegenden Fall zu berichten, wenn nicht gerade die in Rede stehende Oligochätenart schon mehrfach in den Verdacht gekommen wäre, ein gelegentlicher Parasit des Menschen zu sein. Herr Prof. Michaelsen in Hamburg hatte die Freundlichkeit, mich hierauf aufmerksam zu machen. Er selbst hat Pachydrilus lineatus angeblich aus dem Stuhl eines Patienten erhalten, betrachtete allerdings die Herkunft der Würmer doch noch als fraglich, weil es möglich sei, daß letztere erst nachträglich mit dem aus dem Wasserkasten stammenden Spülwasser in den Stuhl gekommen wären. Die gleiche Art ist ferner auch Herrn Geheimrat Prof. Fülleborn in Hamburg vor einiger Zeit

zugegangen. Auch hier soll es sich um ein angebliches Vorkommen im menschlichen Körper handeln. Geheimrat Fülleborn, der vielleicht noch Näheres über dieses Vorkommnis veröffentlichen wird, hatte die Güte, mir mitzuteilen, daß bei seinem Fall irgendeine Täuschung etwa seitens einer hysterischen Person als ausgeschlossen gelten dürfe, immerhin liege allerdings die Möglichkeit nahe, daß der Wurm sich doch in der Klosettspülung entwickelt haben könne, so daß er demnach auch nur nachträglich in den Stuhl hineingekommen wäre.

In dem Berliner Fall, über welchen ich oben berichtet habe, liegt es jedenfalls insofern anders, als die verdächtigen Würmer nicht im Stuhl erschienen sind und daher auch nicht per anum abgegangen sein können, sondern daß sie umgekehrt aus dem Rachenraum des Patienten stammen und per os entleert sein sollen. Sicherlich kann es auch als ausgeschlossen gelten, daß sie in das leere, zum Gurgeln benutzte Becken mit dem Wasserleitungswasser oder mit sonstigem Spülwasser irgendwie zufällig hineingelangt sind. So ist es gewiß verständlich, daß Arzt und Patient zu der Meinung kommen konnten, man habe es hier wirklich mit einem Bewohner des menschlichen Körpers, wenn auch freilich nach Ansicht des Arztes mit einem ungewöhnlichen und seltenen Insassen zu tun. Wir wissen weiter, daß Pachydrilus lineatus in der Wahl seiner Aufenthaltsorte recht anspruchslos ist und an den verschiedensten Stellen gefunden werden kann (vgl. Michaelsen in „Brauer", Die Süßwasserfauna Deutschlands). Man trifft die Art in reinem Süßwasser in sauerstoffreicher Umgebung an Wasserpflanzen sowie unter Steinen an. Man hat P. lineatus in salzhaltigem Wasser an den Meeresküsten und in Salinen beobachtet, und man fand die Tiere auch an verjauchten Oertlichkeiten und in stark verunreinigtem Schmutzwasser, alles Umstände, welche für eine große Widerstandsfähigkeit dieser Würmer und für ihre Unempfindlichkeit gegen Sauerstoffmangel und gegen chemische Beimischungen oder Verunreinigungen des umgebenden Mediums sprechen. Allerdings ist damit noch keineswegs erwiesen, daß die in Rede stehenden Oligochäten die Fähigkeit besitzen, ihr Leben innerhalb des menschlichen Körpers zu fristen, wo sie gezwungen sein würden, unter ganz abweichenden Bedingungen zu leben und sich vor allem an die hohe Körperwärme anzupassen hätten. Hierzu wird P. lineatus sicherlich nicht imstande sein, denn man kennt keinen Ringelwurm, der als Innenbewohner im Körper eines Warmblüters leben kann. Im vorliegenden Falle stammen die Würmer wahrscheinlich aus dem Abflußrohr des zum Gurgeln benutzten Beckens. Bei Wascheinrichtungen, die mit fließendem Wasser versehen sind, pflegt das Abflußrohr ein Kniestück zu haben, in dem sich erfahrungsmäßig im Laufe der Zeit allerlei Schmutzteilchen des Abflußwassers festsetzen, manchmal sogar in solchen Mengen, daß sich dort eine dunkle filzige, vom Wasser ständig durchfeuchtete Masse ansammelt. Meiner Ueberzeugung nach ist das Abflußrohr die Wohnstäte der fraglichen Würmer gewesen, die sich von organischen Detritusteilchen und den dort befindlichen Bakterien und anderen Mikroorganismen ernährt haben dürften. Die Füllung des Darmes mit der oben erwähnten schwärzlichen Masse spricht jedenfalls für diese Deutung. Bei geöffneter Verschlußeinrichtung haben die Würmer sicherlich auch einmal aus dem Abflußrohr bis in das Becken emporsteigen können, an dessen Wand sie dann hängen geblieben und von den Patienten erst nach dem Ausspeien bemerkt worden sind.

Eine schmarotzende Lebensweise oder auch nur ein vorübergehender Aufenthalt der lebenden Würmer innerhalb des Menschen kann meiner Ansicht nach gar nicht in Frage kommen, ebensowenig wie dies für die oben erwähnten Hamburger Fälle anzunehmen ist. Es sei darauf hingewiesen, daß gerade Oligochäten schon öfters in den Verdacht gekommen sind, gelegentliche Bewohner des Menschen zu sein, und zwar nicht allein die im Wasser lebenden Arten, sondern sogar die in der Erde hausenden Regenwürmer. Eine bemerkenswerte Zusammenstellung hiervon hat seinerzeit der französische Gelehrte R. Blanchard zusammen mit Dr. Savignac in einer Schrift über den Pseudoparasitismus bei Oligochäten gegeben (Arch. de Parasitologie. Paris 1910). Wie aus den verschiedenen dort gegebenen Beispielen ersichtlich ist, haben in der Regel Irrtümer und Mißverständnisse Veranlassung gegeben, harmlose Borstenwürmer für gefährliche Parasiten zu halten, während in anderen Fällen sogar beabsichtigte Täuschung seitens hysterischer Frauen vorgelegen hat, die sich selbst lebende Würmer in den Körper hineingebracht hatten. Unter den von R. Blanchard namhaft gemachten Wurmarten ist Pachydrilus lineatus nicht aufgeführt. Es hat sich also jetzt gezeigt, daß diese häufige und weitverbreitete Art ebenfalls sehr leicht in den Verdacht kommen kann, ein „menschlicher Parasit“ zu sein und dann, obgleich es sich um ein vollständig harmloses und unschuldiges Tier handelt, mitunter zu unnötigen Besorgnissen und Beunruhigungen Veranlassung gibt.

Nachdruck verboten.

Kryptantigenes Virus.

Bemerkungen zu dem Vortrag Kraus, Wien. Dieses Centralblatt Bd. 97. 1926. Heft 4—7. S. *160.

Von Dr. **E. Friedberger,**

o. ö. Professor der Hygiene an der Universität Greifswald.

Unter diesem Titel hat Kraus-Wien bei der Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Frankfurt a. Main einen Vortrag gehalten, von dem ich erst aus dem soeben erschienenen Bericht über diese Tagung Kenntnis erhalten habe.

Der referierende Vortrag behandelt in erster Linie die Frage der Existenz eines filtrierbaren Virus bei Protozoen, diskutiert aber auch dieses Problem bei bakteriellen Erregern. Dabei werden die von mir auf diesem Gebiet auf Grund von Versuchen gefundene Tatsachen völlig verschwiegen.

Ich habe als erster bei einer Infektion, bei der ein Bakterium als Krankheitserreger von Anfang an anerkannt ist, über dessen ätiologische Bedeutung bei niemandem ein Zweifel herrschen kann, nachgewiesen, daß der Keim im Organismus eine unsichtbare und unzüchtbare Form, d. h. den Charakter eines „Virus“ annehmen kann.

Ich wählte zu diesen Untersuchungen, die vor 5 Jahren begonnen und vor 3 Jahren veröffentlicht wurden, den Typhus-

bazillus; es galt, mit diesem festzustellen, ob hier bei der Infektion eine unsichtbare und unzüchtbare Modifikation des Erregers auftritt. Ich impfte (Versuche zusammen mit meinen Schülern G. Meissner und Cecchini) Typhusmaterial von der menschlichen Leiche (Organemulsion) auf Meerschweinchen und übertrug Organemulsion und Blut dieser Tiere weiter in Passagen auf gesunde Tiere. Schon von der zweiten Passage ab verschwinden die Typhusbazillen völlig aus dem Organismus der Tiere und sind weder mikroskopisch, noch mit den empfindlichsten Züchtungsmethoden mehr nachweisbar. Die Tiere zeigen jedoch auch in weiteren zahlreichen Passagen ein typisches Fieber und Organe und Serum der auf der Höhe des Fiebers entbluteten „Virus-Meerschweinchen" offenbaren, dem Kaninchen eingespritzt, ein spezifisches starkes antigenes Vermögen gegenüber Typhusbazillen (Agglutininbildung, Bildung bakteriolytischer Antikörper). Ferner konnte ich in den Versuchen mit Cecchini die auch praktisch wichtige Tatsache ermitteln, daß dieses von sichtbaren und züchtbaren Bazillen völlig freie „Virus" Meerschweinchen gegen Infektion durch Typhusbazillen, und zwar weit intensiver schützt als bei der üblichen Vorbehandlung durch bei 56—60° abgetötete Bazillen.

Die Versuche ergaben also die ungemein wichtige Tatsache, daß der Erreger einer sicher bakteriellen Erkrankung, des Typhus, in zwei Formen auftreten kann, in der des Bazillus und in einer weder sichtbaren noch züchtbaren Form, die sich lediglich durch ihre pathogene und antigene Wirkung offenbart. Wegen seiner krankmachenden und Antikörper erzeugenden Fähigkeit habe ich diese unsichtbare Form des Typhuserregers als „kryptantigenes Virus" des Typhus bezeichnet, im Gegensatz zu der züchtbaren und sichtbaren bazillären, der „phaneroantigenen" Form.

Schon damals hatte ich Versuche mit anderen Bakterien im Gange, die die allgemeine Gültigkeit der bei Typhus von mir festgestellten Tatsache bei anderen Krankheitserregern zu bestätigen schienen. Ich mußte leider aus äußeren Gründen diese Versuche plötzlich abbrechen und konnte sie in den drei folgenden Jahren nicht wieder aufnehmen. Eine Nachprüfung scheint in Deutschland nicht erfolgt zu sein. Die Versuche wurden in der Sitzung des Greifswalder Med. Vereins vom 19. 1. 1923, sowie in der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft (Sitzung vom 12. 2. 1923) vorgetragen (Bericht im Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 75, Ref. Nr. 5—6). Sie sind in der Klinischen Wochenschrift 1923, Nr. 10 und 51, veröffentlicht.

Ich muß mich über das Verschweigen dieser meiner Versuche durch Herrn Kraus um so mehr wundern, als er doch die Arbeit von Frau Fejgin erwähnt, die erhebliche Zeit später (Compt. rend. Soc. Biol. 92, 1925, S. 1528) analoge Versuche mit lysierten Typhusfiltraten angestellt hat und die unsrigen dabei mit Quellenangabe zitiert; sie hätten also danach Herrn Kraus bekannt sein müssen.

Auch habe ich, was Herr Kraus gleichsam verschweigt, längst vor Breinl, nämlich im Jahre 1917, die ätiologische Bedeutung des Proteus X für das Fleckfieber erkannt (Deutsche med. Wochenschr. 1917, Nr. 42—44)[1].

---

1) Das zu einer Zeit, da die Entdecker der Reaktion Weil und Felix noch schreiben: „Wir zweifeln nicht mehr daran, daß der von uns gefundene Keim im

Ich sprach dann (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 34, 1922) die Vermutung aus, daß die Schwierigkeit des Nachweises darauf beruhen dürfte, daß der Bazillus im Organismus in einer nicht sichtbaren und nicht züchtbaren Form vorhanden sei. Als weiterhin durch Verbesserung der Technik mehr und mehr, wie schon früher beim Fleckfieberpatienten und der Fleckfieberlaus, auch beim Passage-Meerschweinchen und bei der künstlich infizierten Laus die Züchtung von Bakterien gelang, die teils den X-Stämmen entsprachen, teils ihnen nahe standen, teils in sie überzugehen schienen, ist die von mir behauptete ätiologische Bedeutung des X_{19}-Bazillus wenigstens von namhaften Autoren auf diesem Gebiet, wie Schiff, Kuczynski, Breinl, Fejgin u. a. mehr oder weniger anerkannt worden, indem man den Bazillus, sei es als Mutationsform, sei es als Generationsform eines invisiblen Virus ansah und andererseits auch mit der Ricketsia Prowazeki, als dem besonderen, sichtbaren Entwicklungsstadium in der Laus, in Verbindung brachte. Doch ist von einer allgemeinen Anerkennung der ätiologischen Bedeutung des X-Bazillus auch heute noch keineswegs die Rede, trotzdem weitere Tatsachen im Sinne obiger Auffassung bis in die jüngsten Zeiten hinein immer wieder beigebracht worden sind.

Schon als ich die Hypothese aufstellte, daß der Fleckfieberbazillus deshalb nicht bei der natürlichen und künstlichen Fleckfieberinfektion zu finden sei, weil er sich durch eine unsichtbare und unzüchtbare Form im Körper dem Nachweis entziehe, sagte ich mir, daß es, um diese Hypothese zur Anerkennung zu bringen, notwendig sei, einmal den umgekehrten Weg zu wählen, als er bei der Erforschung der Fleckfieberätiologie eingeschlagen worden ist. Dort wurde ein unsichtbarer und unzüchtbarer Virus als Erreger angenommen, und man sträubte sich trotz der gefundenen, oben angeführten Tatsachen, ihn mit einem banalen Bakterium in Zusammenhang zu bringen.

Und gerade diese Vorstellung, die ich mir als Erster über die Bedeutung des X-Bazillus beim Fleckfieber gebildet hatte, führte mich zu meinen Versuchen bei Typhus.

Ich muß also die Aufdeckung folgender Tatsachen für mich in Anspruch nehmen.

1) Bei nach der herrschenden Anschauung durch unsichtbare und unzüchtbare filtrierbare Vira hervorgerufene Krankheiten, wie dem Fleckfieber, gibt es, wie ich zuerst erkannt habe, eine sichtbare und züchtbare bazilläre Form des Erregers, den Proteus X.

2) Bei durch unbestrittene sichtbare und züchtbare Bakterien hervorgerufenen Erkrankungen, gibt es, wie ich gleichfalls zuerst am Typhus gezeigt habe, eine unsichtbare und unzüchtbare, also „invisible“ Form, ein „invisibles Virus“.

Organismus des Fleckfieberkranken eine spezifische Rolle spielt, ohne ihn jedoch für den Erreger des Fleckfiebers zu halten. Denn kein Bakteriologe, der seit Jahren die ätiologischen Studien über Fleckfieber verfolgt und erlebt hat, wie sämtliche leicht züchtbaren Mikroorganismen (Rabinowitsch usw.) sich nicht behaupten konnten, so daß man entweder Protozoen (Prowazek) oder sehr schwer und mit ganz besonderen Methoden nachweisbare Mikroorganismen (Plotz und Bähr) für die wahrscheinlichen oder sicheren Typhuserreger hielt, wird sich leicht entschließen können, einem Keim, der wie der von uns gefundene wahrscheinlich in die Gruppe der Proteus gehört, eine ätiologische Rolle beim Fleckfieber zuzuschreiben.“

Die letztere Tatsache hat durch die gleichsinnigen Untersuchungen der von Kraus erwähnten Autoren bei Tuberkulose und durch Untersuchungen von Fejgin bei Proteus X-Infektion des Meerschweinchens von Hauduroy bei Dysenterie und Typhus eine vollinhaltliche Bestätigung gefunden. Diese Versuche erhärten erneut die von mir auf Grund meiner Versuche mit Typhusvirus früher gemachte Schlußfolgerung, daß sich bei der Umwandlung virulenter pathogener Bakterien in kryptantigene Vira um ein allgemeines, zum mindesten allgemeineres biologisches Geschehen handeln dürfte.

Nachdruck verboten.

Ueber homologe und heterologe Sensibilisierung des Organismus gegen Bakterienprodukte und über die eventuelle Bedeutung dieser Erscheinungen für die Pathologie.

(Zur Pathogenese von algiden und diesen ähnlichen Zuständen usw.)[1]).

[Aus dem bakteriologischen Reichsinstitut in Baku (Aserbeidshan).]

Von Dozent Dr. med. **P. Sdrodowski** und Dr. **Helene Brenn**,
Assistentin am Institut.

Die Angaben Sanarellis[2]), daß sich bei Kaninchen ein tödlich endendes Stadium algidum nach intravenöser Choleraansteckung und darauffolgender intravenöser Injektion einer indifferenten Menge eines Coli-Toxins (Filtrat einer Coli-Bouillonkultur) hervorrufen läßt, haben wir in früheren Arbeiten[3]) bestätigen können. Gleichzeitig sind wir zu der Ueberzeugung gekommen, daß ein ähnliches, tödliches Syndrom als Folge einer hohen Sensibilisation des Tieres gegen Bac. coli, exo- oder endogener Herkunft, auch nach enteraler Behandlung des Kaninchens mittels Choleravakzine hervorgerufen werden kann, wenn letztere dem Tier im Hungerzustande durch die Magensonde wiederholt verabreicht wird. Es ist uns also die tödliche Sensibilisierung gegen Bac. coli resp. seine Gifte sowohl nach enteraler wie nach parenteraler Cholerainfektion des Tieres gelungen (35 Fälle).

Unsere früheren orientierenden Versuche haben außerdem gezeigt, daß ein dem von Sanarelli beschriebenen vollständig analoges Syndrom auch bei Kaninchen erreicht wird, die 24 Std. nach intravenöser Injektion einer kleinen Menge von B. coli + Coli-Toxin intravenös injiziert erhielten. Ein systematisches Erforschen dieser Frage an 20 Kaninchen zeigte uns, daß durch die zuvor genannte Methode das tödliche Syndrom auch hier fast ebenso oft (60 Proz.) hervorgerufen werden konnte, wie in den nach Santarelli durchgeführten Experimenten.

---

1) Nach einem Vortrag, gehalten auf dem IX. allrussischen Bakteriologenkongreß in Moskau, Mai 1925.

2) Sdrodowski und Brenn, De la Pathogénie du choléra et de l'algidité cholérique Travaux de l'Inst. de microbiologie d'Aserbeidjan 1924 (russisch); Zur Pathogenese der Cholera. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 94. 1925.

3) Sanarelli, Annales de l'Inst. Pasteur 1923/24.

Andererseits zeigte sich, daß dieses unter solchen Bedingungen hervorgerufene Phänomen dem von Santarelli beschriebenen algiden Syndrom vollständig entspricht und sich von letzterem nur in einigen Details seines Verlaufes unterscheidet. Gleichzeitig ersahen wir aus unseren Versuchen, daß ein ähnliches tödliches Syndrom oft auch an Kaninchen gelingt, wenn die näheren Umstände des Experimentes denen der Cholera-Enterosensibilisation ähnlich sind, das ist bei einfach wiederholter Enterovakzination im Hungerzustande oder nach wiederholter Coli-Enterovakzination mit darauffolgender intravenöser Injektion von Coli-Toxin (10 Fälle).

Endlich läßt sich nach Sanarelli das von ihm beschriebene experimentelle algide Syndrom an gegen Cholera immunisierten Kaninchen gleich erfolgreich hervorrufen, und zwar nach nachträglicher intravenöser Zufuhr von Coli-Toxin, wie auch von Proteus-Toxin. Unsere Beobachtungen bestätigten diese Angabe Sanarellis und zeigten gleichzeitig, daß dieses Phänomen auch nach intravenöser Injektion der Kaninchen mit Bac. proteus mit 24 Std. später vorgenommener intravenöser Injektion von Proteus-Toxin auftritt, also unter denselben Verhältnissen, welche oben für B. coli + Coli-Toxin angeführt sind (5 Fälle).

Alle diese Tatsachen führen uns zu der Schlußfolgerung, daß das tödliche Syndrom an Kaninchen hervorgerufen werden kann sowohl in Fällen einer homologen Behandlung mittels Bakterien resp. Bakterienprodukten (z. B. B. coli + Coli-Toxin, B. proteus + Proteus-Toxin) als auch in Fällen einer heterologen Behandlung (z. B. Cholera + Coli-Toxin, Cholera + Proteus-Toxin), wobei besonders eklatante Resultate bei der parenteralen Methode erhalten werden, obgleich das Experiment auch bei der enteralen Methode gelingen kann.

Das durch diese oder jene Methode hervorgerufene Phänomen bietet immer ein und dasselbe klinische Bild, wobei es in Fällen akuter Entwicklung durch eine zunehmende Hypothermie gekennzeichnet ist, die in einen Todeskrampf mit Asphyxie ausläuft, welcher entweder sofort nach dem Experiment oder im Laufe der nächsten Stunden eintritt; in anderen Fällen mit weniger akutem Verlauf offenbart sich eine progressive Prostration, die nach 1—2 Tagen zum Tode führt. In vereinzelten Fällen endlich kann der Tod erst als Folge der sich einstellenden Komplikationen (s. unten) im Laufe von 2—3 Wochen eintreten.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen sind ebenfalls immer dieselben und treten besonders stark nach parenteraler Behandlung der Tiere hervor. Das pathologisch-anatomische Bild ist durch folgende Erscheinungen charakterisiert: Hyperämie der Gefäße der Bauchhöhle und oft Blutergüsse im Bereich der Omenta; Schädigungen der Gefäßkapillaren und Blutergüsse in innere Organe (Lunge, Niere), in einzelnen Fällen sogar subkutane Hämorrhagien; Fettdegeneration des Kapillarendotheliums (besonders in der Leber, bisweilen auch in den Nieren); endlich verschiedengradige Degeneration, Nekrose und Desquamation des Epitheliums vom Dünndarm (ein stark, oft sehr stark ausgeprägtes Enteritisbild), sowie Degeneration und Nekrose des Epitheliums der Tubuli contorti der Nieren, besonders stark ausgeprägt bei parenteraler Behandlung der Tiere (Nephrose verschiedener Intensität oft mit Blutergüssen — „bunte Niere“). In Fällen eines subchronischen Verlaufes des Phänomens nach Behandlung der Tiere mit B. coli + Coli-Toxin beobachteten wir auch ulzeröse Verletzungen des Dickdarmes; Ver-

letzungen der Appendix mit nekrotischen Coli-Herden in ihren Wänden (Appendizitis), bisweilen analoge Verletzungen des Sacculus; in einem Falle (Tod nach 16 Tagen) offenbarte sich eine Nephritis interstitialis (Eiweiß und Epithelialzylinder im Harn in großer Menge).

Unsere Beobachtungen zeigten weiter, daß das akute tödliche Syndrom sich ganz unfehlbar (in 100 Proz. von Fällen) bei Kaninchen einstellt, wenn man letzteren im Laufe von 2—4 Tagen Eialbumin (1 ccm) intravenös einführt und ihnen dann nach einigen Stunden ebenfalls intravenös eine indifferente Dose von Coli-Toxin (1 ccm)[1]) verabreicht; der Tod tritt im Laufe von 30 Minuten bis 22 Std. nach der Einführung des Coli-Toxins ein (10 Fälle).

Dasselbe Phänomen, aber mit weniger akutem Verlauf (Tod nach 1—2—4 und mehr Tagen), stellt sich auch ein, wenn man die Kaninchen mit demselben Eiweiß enteral im Hungerzustande im Laufe von 3 bis 5 Tagen mit 25—30 g desselben sensibilisiert (10 Fälle).

Weitere Versuche mit Eialbuminbehandlung der Kaninchen zeigten, daß dasselbe Phänomen, wenn auch nicht in so regelmäßiger Form, bei Kaninchen zu erzielen ist, wenn man statt Coli-Toxin die Bouillonfiltrate aus Kulturen anderer Bakterien verwendet, z. B. B. proteus, V. cholerae, Micr. melitensis, B. Danycz; nur nach Anwendung von Staphylo- und Streptokokkenfiltraten blieben unsere Experimente erfolglos (21 Fälle).

Aus all diesen Experimenten geht hervor, daß nach Behandlung der Kaninchen mit artfremdem Eiweiß bei letzteren ein Zustand unspezifischer Sensibilisation gegen verschiedene Bakterienprodukte erreicht wurde, und daß solch eine Sensibilisation manchen Bakterien gegenüber sehr elektiv sein kann (in unseren Versuchen B. coli); die unspezifische Sensibilisation tritt sowohl nach parenteraler als auch nach enteraler Behandlung auf.

Klinisch äußert sich das von uns hervorgerufene Phänomen in seiner akuten Entwicklung als ein Todeskrampfsyndrom.

In seinem pathologisch-anatomischen Bilde stellte sich Hyperämie der Gefäße der Bauchhöhle ein und oft Blutergüsse in verschiedene Organe, besonders aber Fettdegeneration des Endotheliums der Gefäßkapillaren verschiedener Organe, z. B. in der Leber und sehr oft in der Niere, den Lungen, der Milz und dem Darm. Diese Fettdegeneration des Endotheliums ist oft sehr stark ausgeprägt und kann sich sehr schnell entwickeln.

Die pathologische Anatomie des von uns untersuchten Syndroms unterscheidet sich von dem Phänomen, das nach homologer oder heterologer Bakteriensensibilisation auftritt, gewöhnlich durch geringere Verletzungen des Epitheliums (z. B. Niere, Darm), was charakteristisch für das letztere ist.

Für das weitere Verständnis der Pathogenese der Erscheinungen, deren Auseinandersetzung Zweck unserer Experimente war, waren auch von wesentlicher Bedeutung bisher noch nicht veröffentlichte Untersuchungen von Dr. B. Ugrjumoff, dem es im Zusammenhang mit unseren Versuchen gelungen ist, ein analoges akut tödliches Syndrom hervorzurufen, und zwar an Kaninchen, die wiederholt mit Tuschesuspension und Kollargol intravenös vorbehandelt und alsdann mit Coli-

1) Unser Coli-Toxin vertrugen die Kaninchen bei intravenöser Injektion ohne Schädigung in Dosen bis zu 5 ccm.

Toxin nachbehandelt wurden. Dieses analoge Phänomen gelang Dr. Ugrjumoff durch einfache Blockierung des retikulo-endothelialen Systems.

Alle oben erwähnten Experimente illustrieren also summarisch die Möglichkeit, unter gewissen Umständen der Sensibilisation eine eigenartige Reaktion auf Bakterienprodukte hervorzurufen. Dieselbe erscheint nach homologer Bakterienbehandlung des Tieres (z. B. B. coli + Coli-Toxin, B. proteus + Proteus-Toxin) wie auch nach heterologer (z. B. Cholera + Coli-Toxin, Cholera + Proteus-Toxin); nach unspezifischer Behandlung mit nicht bakteriellem Eiweiß (z. B. Eialbumin + Coli-Toxin). Die sich unter diesen Umständen im Organismus einstellende Reaktion gehört mit allen ihren Eigentümlichkeiten zur Kategorie der Anaphylaxieerscheinungen[1]) und kann als „Anaphylaktoid" bezeichnet werden.

Die in all unseren Experimenten sich zeigende Beteiligung des Kapillarenendothels (Blutergüsse) und besonders die fettige Degeneration des Endothels, sowie Ugrjumoffs Experimente der Blockierung des retikulo-endothelialen Systems lassen uns annehmen, daß ein Anaphylaktoid verursachendes Agens topographisch an das Endothel gebunden ist[2]) und seine Wirkung unter gewissen Umständen (z. B. Cholera + Coli-Toxin) auch auf das Epithelsystem erstrecken kann (Niere, Darm).

Die von uns beschriebenen Erscheinungen der Sensibilisation des Organismus gegen Bakterien resp. Bakterienprodukte, die nach enteraler und parenteraler Behandlung auftreten, und besonders die sehr leicht und verschiedenartig auftretende Sensibilisation gegen B. coli dürften für die Pathogenese verschiedener Krankheitszustände von Bedeutung sein. Mit einer derartigen Sensibilisation steht gewiß auch die Pathogenese der algiden und algideähnlichen Zustände, die bei Cholera asiatica, Kindercholera, Cholera nostras usw. beobachtet wurden, im Zusammenhang. Die Möglichkeit, unter gewissen Versuchsbedingungen (B. coli + Coli-Toxin) Verletzungen der Nieren (Nephrose, interstitielle Nephritis), charakteristische Veränderungen der Appendix (Appendizitis) und ulzeröse Prozesse des gastro-intestinalen Traktus (Ulzera als Folge von Hämorrhagien in der Darmwand) hervorzurufen, nötigt zu weiterem Nachdenken über die Rolle, welche die von uns untersuchten Prozesse bei der Entstehung dieser Erkrankungen spielen könnten. Es ist wichtig, darauf hinzuweisen, daß der Organismus sich außergewöhnlich leicht und unter ganz verschiedenen Umständen gegen seinen beständigen Darmbewohner B. coli sensibilisieren läßt. Sanarelli ist der Meinung, daß das nach seiner Methode bei cholerisierten Kaninchen (Cholera + Coli oder Proteus-Toxin) auftretende anaphylaktische Syndrom — der Cholera algida des Menschen gleiche; die Pathogenese dieses Phänomens steht nach Sanarelli in Verbindung mit der Sensibilisation des Organismus gegen B. coli resp. B. proteus (auch gegen andere „microbes de sortie", z. B. Staphylo-, Streptokokkus, B. paratyphi), die als Resultat einer Aktivierung dieser Mikroben unter dem Einfluß der Cholera auftritt. Diese Vermutung

1) Dr. N. Kolesnikoff, der unser Material pathologisch-anatomisch untersuchte, konstatierte in den Lungen der verendeten Tiere Ansammlungen von Eosinophilen im Bereich der Gefäße. Diese Befunde seinerseits sprechen deutlich für den anaphylaktischen Charakter des Phänomens.

2) Vergleiche Lumière, Le problème de l'Anaphylaxie, Paris 1924.

Sanarellis über die Identität zwischen der experimentellen und der Choleraalgide ist mehr als wahrscheinlich; auch wir haben im Laufe unserer bisherigen Untersuchungen die Angabe Sanarellis über die „aktivierende" Wirkung der Cholera dem B. coli gegenüber bestätigen können, nur sind wir der Ansicht, daß der Pathogenese nach die experimentelle Algide Sanarellis nur eine Teilerscheinung des oben beschriebenen unspezifischen „Anaphylaktoides" darstellt, das infolge der Sensibilisation des Tieres durch Cholera resp. Choleraproteine auftritt; daher auch die Möglichkeit, dieses Phänomen an cholerisierten Kaninchen mittels verschiedener Bakterienprodukte (Coli-, Proteus-Toxin usw.) nach Sanarelli hervorzurufen, ganz analog dem, was wir bei Kaninchen, die durch Eialbumin sensibilisiert waren, beobachten konnten.

Da es möglich ist, mit B. coli und dieser oder jener Sensibilisation des Tieres (B. coli + Coli-Toxin, Eialbumin + Coli-Toxin) algide oder algideähnliche Zustände hervorzurufen, so liegt es nahe, dem B. coli und seinen Produkten in der Pathogenese der Kindercholera mit ihren algideähnlichen Symptomen eine große Bedeutung zuzuschreiben.

Vielleicht entsteht die Kindercholera infolge einer homologen (nach dem Schema B. coli + Coli-Toxin) oder heterologen (nach dem Schema Eialbumin + Coli-Toxin) Sensibilisation des Organismus gegen Bac. coli, die wiederum ihre Entstehung einer vorangegangenen Verdauungsstörung und damit verbundenen Veränderung der Darmflora, wie einer Steigerung der Permeabilität der Darmwand verdankt — alle diese Umstände ermöglichen eine Sensibilisation gegen Bakterienprodukte auf Kosten der resorbierten Bakterienprodukte und womöglich auch durch Eiweiß.

Die Experimente führen uns also zu einer prophylaktischen Coli-Vakzination der Kinder gegen Kindercholera (alimentäre Toxikose). Derartige Vakzinationen wurden auf unseren Vorschlag im Jahre 1924 von Dr. Karajeff in Baku vorgenommen und ergaben erfreuliche Resultate. Die Versuche werden in diesem Sommer in größerem Maßstabe weitergeführt.

B. coli ist voraussichtlich der wichtigste Vertreter in der Aetiologie der Kindercholera, doch kann die letztere auch durch andere Mikroben hervorgerufen werden, z. B. durch B. proteus, dem man öfters die Schuld zuschrieb (Metschnikoff, Ziklinskaja). Unsere Untersuchungen bestätigten auch letztere Möglichkeit, da auch gegen diesen Bazillus die Sensibilisation des Organismus (B. proteus + Proteus-Toxin, Eialbumin + Proteus-Toxin) sehr leicht zu erzielen war.

Ueber die Desinfektionswirkung von Chloramin (v. Heyden).

[Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München (Vorstand: Prof. Dr. Karl Süpfle).]

Von Dr. med. vet. **Adolf Köser.**

Seit dem Jahre 1921 bringt die Chemische Fabrik von Heyden, als Ersatz der umständlich zu bereitenden Dakinschen Hypochloritlösung ein p-Toluolsulfonchloramidnatrium unter dem Namen „Chloramin" in den Handel. Ueber seine Verwendungsmöglichkeit zur Wundbehandlung und zur Desinfektion sind bereits mehrere Veröffentlichungen erschienen, über die das Sammelreferat von F. Falk[1]) gut orientiert. Die meisten Autoren beurteilen die bakterizide Wirkung des Chloramins schon in niederkonzentrierten Lösungen günstig; doch fehlt es nicht an Stimmen, die vor einer Ueberschätzung warnen; namentlich konnte Laubenheimer[2]) nur eine sehr mäßige keimtötende Kraft 1proz. Lösungen feststellen.

Auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Süpfle habe ich daher Versuche über die Desinfektionswirkung des Chloramins angestellt, um einen Beitrag zur Bewertung dieses neuen Desinficiens liefern zu können. Bei meinen Untersuchungen hatte ich mich der Unterstützung durch den Assistenten des Instituts, Herrn Dr. Paul Hofmann, zu erfreuen, dem ich für seine stete Hilfsbereitschaft verbindlichst danke.

Allgemeine Versuchsanordnungen.

Ich arbeitete mit der Suspensionsmethode und benutzte zu den Versuchen teils Staphylococcus pyogenes aureus, teils Bacterium coli commune, teils Bacillus anthracis, und zwar solche Stämme der Sammlung des Tierhygienischen Instituts, die wegen ihrer Resistenz mit Vorliebe als Testobjekte für Bakterizidieversuche im Institut herangezogen werden. 18stünd. Agarreinkulturen (Petri-Schalenoberflächen) wurden vorsichtig mit steriler, physiol. Kochsalzlösung so abgeschwemmt, daß jeder Petri-Schale 8 ccm zugesetzt wurden. Diese milchigtrübe Suspension filtrierte ich durch sterile Zellstoffwatte. Die Chloraminlösungen wurden jedesmal frisch mit Aqua dest. steril. hergestellt. Gleiche Volumina Bakterienaufschwemmung und Chloraminlösung wurden in sterilen Saftfläschchen gemischt. Der Bakteriensuspension setzte ich die Chloraminlösung in doppelter Konzentration hinzu, wie sie zur Wirkung kommen sollte. Von Zeit zu Zeit überimpfte ich nach vorherigem gründlichen Schütteln des Bakterien-Chloramingemisches eine Oese in die zur Nachkultur geeigneten, von

1) Falk, F., Ueber Chloramin-Heyden. (Ztschr. f. Desinfektions- u. Gesundheitswesen. Bd. 17. S. 1.)

2) Laubenheimer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 100. S. 425.

Süpfle und Dengler[1], [2]) angegebenen optimalen Nährböden, also 3proz. Traubenzuckerbouillon für Staph. pyog. aureus, 1proz. Traubenzuckerbouillon für Bact. coli commune, 3proz. Traubenzuckerbouillon mit 5 Proz. Serumzusatz für Bac. anthracis.

Gleichzeitig machte ich Kontrollversuche mit Kresolseife, Phenol und Chlorkalk, um einerseits einen Maßstab für die Resistenz meiner Testbakterien zu gewinnen und andererseits die Wirkung des Chloramins mit dem Desinfektionseffekt bekannter Desinfektionsmittel vergleichen zu können.

Versuchsergebnisse.

Meine Untersuchungen führte ich mit „Rein-Chloramin" aus, das dem Institut in den erforderlichen Mengen von der Chemischen Fabrik v. Heyden in entgegenkommender Weise überlassen worden war. Die von mir mit destill. Wasser hergestellten Lösungen waren in Konzentrationen bis 1 Proz. klar, während 1,5- und höher-prozentige Chloraminlösungen schwach getrübt waren. Die Angabe Dobbertins, die Lösungen reagierten neutral oder minimal alkalisch — ein Befund, der auch von Dold und Klimmer notiert wird — habe ich nachgeprüft und gefunden, daß Chloraminlösungen zwar nicht völlig neutral, aber nur wenig alkalisch reagieren. Die Wasserstoffionenkonzentration der einzelnen Lösungen, mit dem Komparator nach Michaelis und Meta-Nitrophenol als Indikator ermittelt, betrug

bei 0.25proz. Lösung $p_H = 7,5$
„ 0,5 „ „ „ = 7,9
„ 1 „ „ „ = 8,0
„ 2 „ „ „ = 8,5.

Bei 1proz. Chlorkalklösungen war die Alkalität größer; wir fanden bei einem Präparat pH = 8,9, bei anderen 9,1—9,4.

Im Einklang mit der Angabe der Fabrik stellte ich fest, daß der nach Salzsäurezusatz jodometrisch nachweisbare Gehalt an „wirksamem Chlor" bei Rein-Chloramin 25—26 Proz. beträgt. Wenn man Chloramin in Form der wässerigen Lösung, also ohne Salzsäurezusatz, titriert, findet man einen Gehalt an augenblicklich reaktionsfähigem Chlor von ca. 18 Proz. Werden 0,25—10proz. Chloraminlösungen verschlossen in gut schließenden dunklen Flaschen aufbewahrt, so zeigen sie während 15 Tagen (länger habe ich die Prüfung nicht fortgesetzt) bei Zimmertemperatur einen unveränderten Chlorgehalt, wie Tab. I zeigt.

Tabelle I.

Konzentration der Chloraminlösung	Chlorgehalt bei Titration ohne Salzsäurezusatz		
	am Tage der Zubereitung (13. 5. 1925)	nach 8 Tagen	nach 15 Tagen
10 Proz.	1,89 Proz. Cl.	1,89 Proz. Cl.	1,89 Proz. Cl.
5 „	0,96 „ „	0,96 „ „	0,95 „ „
3 „	0,55 „ „	0,55 „ „	0,53 „ „
2 „	0,37 „ „	0,36 „ „	0,36 „ „
1 „	0,17 „ „	0,17 „ „	0,17 „ „
0,5 „	0,08 „ „	0,08 „ „	0,08 „ „
0,25 „	0,04 „ „	0,04 „ „	0,04 „ „

1) Süpfle, K., Arch. f. Hyg. Bd. 87. H. 5/6.
2) Süpfle, K., u. Dengler, A., Ibid. Bd. 85. H. 4.

Auch 10proz. Lösungen, die offen bei Zimmertemperatur stehen blieben, bewahrten 6 Tage (länger habe ich die Prüfung nicht durchgeführt) ihren Chlorgehalt unverändert. Bei Chlorkalklösungen erfuhr der Chlorgehalt nur dann keine Abnahme, wenn die Lösungen in verschlossener dunkler Flasche standen. Eine offenstehende 10proz. filtrierte Chlorkalklösung dagegen ergab bei Titration ohne Salzsäurezusatz sofort nach der Herstellung einen Chlorgehalt von 0,48 Proz., nach 6 Tagen von 0,31 Proz.; bei der Titration mit Salzsäurezusatz betrug der Gehalt an „wirksamem Chlor“ sofort nach der Herstellung 2,94 Proz., nach 6 Tagen 1,17 Proz.

Um die entwicklungshemmende Wirkung des Chloramins festzustellen, wurden je 10,0 ccm 1- bzw. 3proz. Traubenzuckerbouillon mit steigenden Mengen von Chloraminlösungen abgestufter Konzentration versetzt und dann mit je 1 Tropfen einer Aufschwemmung einerseits von Bact. coli, andererseits von Staphylokokken beimpft. Nach der Bebrütung bei 37° kam die eventuelle Entwicklungshemmung in dem Ausbleiben der Vermehrung der Einsaat zum Ausdruck. (Tab. II u. III.)

Tabelle II[1]).
Entwicklungshemmung von Chloramin gegenüber Bact. coli.

Konzentration der zugesetzten Chloraminlösung	Menge der zum Nährboden zugesetzten Chloraminlösungen in Kubikzentimetern					
	0,1	0,25	0,5	1	1,5	2
0,1 Proz.	.	+	+	+	.	+
0,25 „	.	+	+	+	.	+
0,5 „	.	+	+	+	.	+
1 „	.	+	+	+	+	—
1.5 „	.	+	+	+	—	.
2 „	.	+	+	—	—	.
3 „	+	+	—	.	.	.

Tabelle III.
Entwicklungshemmung von Chloramin gegenüber Micr. pyogenes.

Konzentration der zugesetzten Chloraminlösung	Menge der zum Nährboden zugesetzten Chloraminlösung in Kubikzentimetern					
	0,5	1	1,5	2	3	4
0,5 Proz.	.	+	+	+	+	—
1 „	+	+	—	—	.	.
1,5 „	+	+	—	—	.	.
2 „	+	—	—	—	.	.
3 „	—	—	—	—	.	.

Aus den Ergebnissen der in Tab. II und III niedergelegten Protokolle läßt sich errechnen, daß Chloramin etwa in einer Verdünnung von 1:500 auf die Vermehrung von Bact. coli und Staphylokokken in optimalen Nährböden eine entwicklungshemmende Wirkung ausübt.

Die Prüfung der Desinfektionswirkung des Chloramins nach dem beschriebenen, im Institut üblichen Verfahren ergab, daß 0,5proz. Chloraminlösung zwar imstande ist, das hinfälligere Bact. coli schon innerhalb 1 Min. zu töten, die resistenteren Staphylokokken aber

1) In den Tabellen bedeutet: + Wachstum, — kein Wachstum, . Versuch nicht ausgeführt.

erst in 30 Min. Selbst eine 2proz. Chloraminlösung war gegen Staphylokokken erst nach 5 Min. wirksam. Bei Anwendung jeweils der gleichen Bakteriensuspensionen tötete vergleichsweise 2,5proz. Kresolseifenlösung Bact. coli nach 1 Min., Staphylokokken nach 6 Min. (vgl. Tab. IV und V).

Tabelle IV.
Desinfektionswirkung von Chloramin gegenüber Bact. coli.
Datum des Versuches: 26. 5. 1925.

Nach Minuten:		1	5	10	15
Chloramin	0,1 Proz.	+	+	—	—
„	0,25 „	+	+	—	—
„	0,5 „	—	—	—	—
„	1 „	—	—	.	.
„	1,5 „	—	—	.	.
„	2 „	—	.	.	.
„	3 „	—	.	.	.
Kresolseifenlösung	2,5 „	—	—	.	.

Tabelle V.
Desinfektionswirkung von Chloramin gegenüber Micr. pyogenes.
Datum des Versuches: 19. 2. 1925.

Nach Minuten:		1	3	5	6	10	20	30	40	50	60	180
Chloramin	0,1 Proz.	.	.	.	.	.	.	.	.		+	—
„	0,25 „	.	.	.	.	+	+	+	+	—	—	.
„	0,5 „	+	.	+	.	+	+	—	.	.	.	.
„	1 „	+	+	+	+	—	.	.	.	.	.	.
„	1,5 „	+	.	+	.	—	.	.	.	.	.	.
„	2 „	+	+	—	.	.	.	.	.	.	.	.
„	3 „	+	+	—	.	.	.	.	.	.	.	.
Kresolseifenlösung	2,5 „	+	.	+	—	—	.	.	.	.	.	.

Das Resultat meiner Desinfektionsversuche mit Chloramin gibt also zwar ein günstiges Bild von der Wirkung des Chloramins, aber kein ganz so günstiges wie die Versuchsreihen anderer Autoren, nach denen 1proz. Chloraminlösungen schon nach 3 Min. Staphylokokken vernichten.

Konzentration der Chloraminlösung	Klimmer		Bergin		Fetscher		Aufrecht		Eigene Ergebnisse	
	Staphyl.	coli	Staphyl.	coli	Staphyl.	coli	Staphyl.	coli	Staphyl.	coli
0,05 Proz.	.	.	2 Std.	3′	.	.	.	.	.	.
0,1 „	60′	.	20′	sofort	.	.	.	.	noch nicht in 60′	10′
0,5 „	5′	.	.	.	.	.	.	.	30′	1′
1,0 „	3′	.	.	.	3′	30Sek.	.	3′	10′	1′
1,5 „	.	.	.	.	.	.	5′	.	10′	1′
3 „	.	.	.	.	40 Sek.	sofort	.	.	5′	1′

Die hier wiedergegebenen Abtötungszeiten der verschiedenen Prüfer lassen sich allerdings mit meinen Ergebnissen nicht ohne weiteres vergleichen, da die einzelnen Autoren mit verschiedener Methodik arbeiteten. Das von mir benutzte Prüfungsverfahren stellt besonders durch

die Eigentümlichkeit, daß **dichte** Bakteriensuspensionen verwendet werden, hohe Anforderungen an die Desinfizientien. Im Hinblick auf die kürzeren Abtötungsfristen anderer Untersucher bot es daher Interesse, die Desinfektionswirkung des Chloramins gegenüber verschieden dichten Bakteriensuspensionen gleichzeitig zu prüfen. Wir verfuhren daher so, daß wir 0,5 Proz. Chloramin einerseits auf Staphylokokkenaufschwemmungen der bisher verwendeten Dichte einwirken ließen, andererseits auf dünnere Bakteriensuspensionen, die aus der konzentrierten Aufschwemmung durch Verdünnung mit physiol. Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 und 1:50 bereitet wurden. (Tab. VI.)

Tabelle VI.

Desinfektionswirkung von Chloramin, Phenol, Kresolseifenlösung gegenüber verschiedenen dichten Suspensionen von Micr. pyogenes.

Datum des Versuches: 15. 10. 1925.

	Dichte Bakteriensuspension					**Bakteriensuspension 1:10**					**Bakteriensuspension 1:50**				
Nach Min.:	5	10	15	20	30	5	10	15	20	30	5	10	15	20	30
Chloramin 0,5 Proz.	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Phenol 1,5 Proz.	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—
Kresolseife 2,5 Proz.	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—

Wie die in Tab. VI wiedergegebenen Versuche zeigen, erscheint die Desinfektionskraft des Chloramins sehr abhängig von der **Dichtigkeit der Bakteriensuspension**: zur Abtötung einer dichten Suspension bedarf es einer Einwirkungsdauer von 20 Min., zur Abtötung einer mitteldichten Suspension nur 15 Min. und zur Abtötung einer sehr dünnen Suspension gar nur 5 Min. Bemerkenswerterweise ist im Gegensatz zu Chloramin eine 2,5proz. Kresolseifenlösung völlig unabhängig 1,5proz. Phenol nur wenig abhängig von dem Grad der Dichtigkeit der Bakteriensuspension. Das zum Vergleich herangezogene Phenol wurde absichtlich in niedriger Konzentration (1,5 Proz.) verwendet, um einen Schluß auf die Resistenz der Testbakterienaufschwemmung zu ermöglichen; 2proz. Phenol würde bereits innerhalb 1 Min. Abtötung herbeigeführt haben.

Das Ergebnis, daß 2,5proz. **Kresolseifenlösung** unsere dichten Bakteriensuspensionen ebenso rasch bewältigt wie dünne Aufschwemmungen, lehrt einerseits, daß unsere mit dichten Aufschwemmungen arbeitende Prüfungsmethode keine übertriebenen, unerfüllbaren Anforderungen stellt, andererseits, daß im Vergleich zu Chloramin die Kresolseifenlösung eine Intensität der Wirkung auf Wuchsformen besitzt, die bei einer Prüfung mit dünnen Bakteriensuspensionen übersehen wird. Die Beobachtung, daß Chloramin gegenüber dichten Bakterienaufschwemmungen weniger wirksam ist als gegenüber dünnen, mahnt uns zur Vorsicht bei der Entscheidung, welche Konzentration des Chloramins in der Desinfektionspraxis vorgeschrieben werden soll. Bekanntlich werden manche Desinfektionsmittel durch die Gegenwart organischer Stoffe in wässerigen Lösungen mehr, andere wenig oder gar nicht in ihrer Desinfektionswirkung beeinflußt; am ungünstigsten liegen die Verhältnisse,

worauf schon Krönig und Paul im Jahre 1897 hingewiesen haben, bei den Halogenen und anderen Oxydationsmitteln. Unsere Versuche illustrieren den störenden Einfluß organischer Stoffe, da dichte Bakterienaufschwemmungen in diesem Sinne wie dünne Aufschwemmungen mit Zusatz von organischen Stoffen wirken.

Im Hinblick auf die chemische Natur des Chloramins war es interessant, die Desinfektionskraft des Chloramins mit der Wirkung der Chlorkalkmilch zu vergleichen. Der Versuchsplan wäre hierbei, Chlorkalklösungen mit dem gleichen Gehalt an augenblicklich abgespaltenem Chlor zum Vergleich mit den jeweils zu prüfenden Chloraminlösungen heranzuziehen. Orientierungversuche dieser Art überzeugten uns sehr bald, daß dieser Vergleich bei kurzfristigen Versuchen in die Irre führt. Wir trachteten sorgfältig danach, mit Chlorkalklösungen zu arbeiten, die genau den gleichen Chlorgehalt haben sollten wie die verwendeten Chloraminlösungen. Aus dem in luftdicht verschlossenen Standgläsern aufbewahrten Chlorkalk der Firma C. A. F. Kahlbaum, Berlin, wurde eine ca. 10proz. Chlorkalkmilch hergestellt, die so lange filtriert wurde, bis ein klares Filtrat entstand; in dieser Chlorkalklösung wurde (ohne Salzsäurezusatz) der Chlorgehalt bestimmt; es wurde dann berechnet, in welchen Mengenverhältnissen diese Chlorkalkstammlösung mit Wasser verdünnt werden müsse, um eine Chlorkalklösung mit dem gewünschten Gehalt an abgespaltenem Chlor zu erhalten. Wenn ich in dieser Weise z. B. 0,5proz. Chloraminlösungen mit 0,085 Proz. ohne Salzsäurezusatz titrierbarem Chlorgehalt und entsprechend konzentrierte Chlorkalklösungen gegenüber Staphylokokken prüfte, wirkten die Chlorkalklösungen stets auffällig rascher als die Chloraminlösungen.

Aufklärung brachte die fortlaufende Titration des Chlorgehaltes in einem Gemisch von Bakterien mit Chlorkalk:

Chlorgehalt in Proz. eines Bakterien-Chlorkalk-Gemisches

	titriert ohne Salzsäurezusatz	titriert mit Salzsäurezusatz
nach 1 Minute	0,13	1,00
„ 30 Minuten	0,23	0,98
„ 2 Stunden	0,46	0,91
„ 18 „	0,16	0,85

Das in der wässerigen Chlorkalklösung titrimetrisch nachweisbare Chlor steigt unter der Wirkung der Kohlensäure der Luft an, um dann wieder abzufallen; das bei Salzsäurezusatz nachweisbare Chlor sinkt ständig ab.

Ganz anders verläuft der analoge Versuch mit Chloramin: in der Chloraminlösung bleibt der Gehalt an Chlor längere Zeit fast unverändert.

Chlorgehalt in Proz. eines Bakterien-Chloramin-Gemisches:

	titriert ohne Salzsäurezusatz	titriert mit Salzsäurezusatz
nach 1 Minute	0,36	0,50
„ 30 Minuten	0,36	0,50
„ 2 Stunden	0,34	0,50
„ 24 „	0,34	0,50

Diese Ergebnisse zeigen, daß bei einer Chlorkalklösung der Gehalt an abgespaltenem Chlor, der zu Beginn des Versuches festgestellt wurde, im Laufe des Versuches nicht gleich bleibt, wie bei der Chloraminlösung, sondern zunächst steigt, dann abnimmt. Die Schwankungen im Chlorgehalt treten im Desinfektionsversuch naturgemäß sehr auffällig in die

Erscheinung, wenn das Testobjekt Wuchsformen sind, die schon gegen relativ geringe Konzentrationserhöhungen empfindlich sind. Dagegen war zu erwarten, daß ein Vergleich zwischen Chlorkalklösungen und Chloraminlösungen durchführbar sei, wenn als Testobjekt sehr resistente Keime und passende Konzentrationen gewählt werden: die Abtötung erfordert dann einen längeren Zeitraum, während dessen es nicht von wesentlichem Belang ist, ob die wirksame Konzentration innerhalb gewisser Grenzen schwankt.

Hierzu eigneten sich Versuche über die Abtötung von Milzbrandsporen. Durch Züchtung auf Weizengrießagar wurden versporte Milzbrandkulturen erhalten, die in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden. Die Sporensuspension wurde gegenüber 10proz. und 5proz. Chloramin sowie gegenüber Chlorkalklösung mit einem den Chloraminlösungen entsprechenden Anfangsgehalte an abgespaltenem Chlor geprüft. Es konnte festgestellt werden, daß 5proz. Chloramin resistente Milzbrandsporen in 3 Std. tötete, 10proz. Chloramin nach 2 Std.; die beiden zum Vergleich benutzten Chlorkalklösungen wirkten nach 2 Std. abtötend auf Milzbrandsporen.

Die nach der chemischen Natur des Chloramins anzunehmende prinzipielle Gleichartigkeit der Wirkung von Chloramin und Chlorkalk — beide führen letzten Endes zum Auftreten von naszierendem Sauerstoff — konnte hier im Experiment bestätigt werden. Chloramin besitzt demnach nicht nur gegenüber Wuchsformen eine tötende Wirkung, sondern auch gegenüber Sporen. Durch seine sporizide Fähigkeit übertrifft Chloramin die Desinfektionswirkung der Phenole und Phenolderivate, die, so zuverlässig sie in geeigneten Konzentrationen Wuchsformen vernichten, gegenüber Sporen völlig versagen.

Das Chloramin ist also vorzüglich geeignet, in der Desinfektionspraxis an die Stelle des Chlorkalkes zu treten, vor dem es den außerordentlich wichtigen Vorzug der größeren Haltbarkeit besitzt. Der Chlorkalk des Arzneibuches soll mindestens 25 Proz. wirksames Chlor enthalten. Die aus dem Handel bezogenen Chlorpräparate zeigen jedoch eine sehr wechselnde Zusammensetzung. Diese Tatsache wird von den verschiedensten Autoren, die den Chlorgehalt ihrer Präparate prüften, hervorgehoben; sie trat auch bei meinen eigenen Versuchen sehr deutlich hervor. Ich habe Chlorkalkpräparate in den Händen gehabt, die 32 Proz. wirksames Chlor enthielten, aber auch Präparate, deren mit Salzsäurezusatz titrierter Chlorgehalt nur 10 Proz. betrug. Ohne spezielle Prüfung hat man beim Chlorkalk niemals eine Gewähr, wie wirksam das gerade benutzte Präparat ist. Die verschiedenen Packungen Chloramin dagegen, die wir untersuchten, enthielten stets den von der Fabrik angegebenen Chlorgehalt.

Wenn in der Desinfektionspraxis Wuchsformen abgetötet werden sollen, würde nach dem von uns im Reagenzglasversuch festgestellten Desinfektionseffekt — unter Zurechnung eines Sicherheitszuschlages — eine $2^1/_2$proz. Chloraminlösung mindestens 2 Std. zur Einwirkung kommen müssen. Wo Sporen vernichtet werden sollen, wäre die Konzentration auf 5 Proz. und die Einwirkungszeit auf mindestens 6 Std. zu erhöhen. Handelt es sich um Desinfektionsaufgaben, bei denen die Chloraminlösungen keine Verdünnungen erfahren, so würden die angegebenen Konzentrationen selbst angewendet werden können. Wo aber, wie bei der Desinfektion von Entleerungen, Schmutzwasser, Jauche usw. die Chloraminlösungen eine Verdünnung erleiden,

müßten die Konzentrationen und die zuzusetzenden Mengen der Lösungen so berechnet werden, daß nach der Vermischung der keimhaltigen Flüssigkeit mit der Chloraminlösung die jeweils erforderliche Chloraminkonzentration resultiert. Ein für viele Fälle brauchbarer Modus wäre, die keimhaltige Flüssigkeit mit dem gleichen Volumen 5proz. bzw. (bei Sporen) 10proz. Chloraminlösungen zu versetzen.

Bei der Anwendung der Chloraminlösungen ist zu erwägen, daß die oxydierende Wirkung des Chloramins nicht weniger zu Schädigungen bestimmter Gegenstände führen kann, als die gleiche, längst bekannte Wirkung des Chlorkalkes. Farben können also gebleicht werden, Metalle, Gummi, Stoffe können geschädigt werden. Die Chloraminlösungen sollten also zur Desinfektion nur solcher Gegenstände benutzt werden, die gegen die Wirkung des naszierenden Sauerstoffes unempfindlich sind.

Zusammenfassung.

1) Die von mir untersuchten Packungen Rein-Chloramin (von Heyden) enthielten, der Angabe der Fabrik entsprechend, stets etwa 25 Proz. durch Salzsäure freizumachendes Chlor. — 2) Werden 0,25- bis 10proz. wässerige Chloraminlösungen in dunklen Flaschen verschlossen aufbewahrt, so bleibt der Chlorgehalt während 15 Tagen unverändert. — 3) Auf die Vermehrung von Bact. coli und von Staphylokokken in optimalen Nährböden übt Chloramin in einer Verdünnung von 1:500 eine entwicklungshemmende Wirkung aus. — 4) Prüft man die Desinfektionswirkung wässeriger Chloraminlösungen gegenüber dichten Bakteriensuspensionen, so tötet 0,5proz. Chloramin Bact. coli innerhalb 1 Min., Staphylokokken in 30 Min. Will man Staphylokokken schon in 5 Min. vernichten, so sind 2proz. Chloraminlösungen erforderlich. Unter den gleichen Bedingungen tötet 2,5proz. Kresollösung Bact. coli in 1 Min., Staphylokokken in 6 Min. Milzbrandsporen werden von 5proz. Chloramin in 3 Std., von 10proz. Chloramin in 2 Std. getötet. — 5) Das Chloramin ist vorzüglich geeignet, in der Desinfektionspraxis an die Stelle des Chlorkalks zu treten, der prinzipiell gleichartig wie Chloramin wirkt, aber als Handelspräparat einen inkonstanten Chlorgehalt besitzt. Wie Chlorkalklösungen sollten aber auch Chloraminlösungen zur Desinfektion nur solcher Gegenstände benutzt werden, die gegen die Wirkung des naszierenden Sauerstoffes unempfindlich sind.

Untersuchungen über die Brauchbarkeit des Trockenkomplements.

[Aus der serologischen Abteilung des Hygienischen Staatsinstituts zu Hamburg. (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. R. O. Neumann.)]

Von Prof. Dr. **W. Gaehtgens.**

Die große Labilität des frischen Meerschweinchenserums hat schon seit Jahren immer wieder zu Versuchen Anlaß gegeben, die Wirksamkeit

des Komplementes in geeigneter Weise für längere Zeit haltbar zu machen. Praktische Bedeutung hat allein das Schnelltrocknungsverfahren erlangt, das mit einer von Gäde und Straub (1) besonders konstruierten Apparatur die schonende Trocknung großer Flüssigkeitsmengen in wenigen Minuten ermöglicht. Das auf diese Weise gewonnene Trockenkomplement ist ein gelblich-rötliches Pulver, das sich durch leichte Löslichkeit, lange Haltbarkeit und Titerbeständigkeit auszeichnen soll (Koenigsfeld, 2). Um eine gebrauchsfertige Lösung herzustellen, wird eine abgewogene Menge des Präparates in möglichst dünner Schicht auf die 9fache, in ein Erlenmeyer-Kölbchen eingefüllte Menge destillierten Wassers gestreut und einige Minuten zum Quellen stehen gelassen. Die Körnchen lösen sich dann unter leichten Schüttelbewegungen mehr oder weniger schnell auf. Die auf diese Weise erhaltene Stammlösung entspricht konzentriertem Meerschweinchenserum und dient zur Herstellung der weiteren Verdünnungen.

Die bisherigen Nachprüfungen haben keine Uebereinstimmung über die Brauchbarkeit des Trockenserums, namentlich hinsichtlich seiner Verwendbarkeit für die Wassermann-Reaktion ergeben. Pokorná (3) fand eine Uebereinstimmung mit frischem Komplement bei der WaR. in 97,6 Proz. der Fälle. Auch Schmitz (4) konnte keine Differenzen bei sicher positiven und negativen Proben feststellen; nur bei zweifelhaften Reaktionen erwies sich das frische Komplement als wirksamer. Demgegenüber bezeichnet Kuznitzky (5) das Trockenkomplement als sehr unvollkommenen Ersatz des frischen Meerschweinchenserums und auch M. Stern (6) stellt seine Brauchbarkeit in Abrede, da es die antikomplementäre Eigenschaft mancher Sera steigert und unspezifische Hemmungen stärkeren oder geringeren Grades hervorruft. Einen mehr vermittelnden Standpunkt nehmen Poehlmann (7) und Schilf (8) ein. Beide konnten feststellen, daß die hämolytische Kraft des Trockenkomplementes derjenigen des frischen Serums gleich bzw. annähernd gleich ist. Dagegen wird die Bindungsfähigkeit bei dem Trocknungsprozeß in dem Sinne beeinträchtigt, daß manche positive Sera abgeschwächt, unter Umständen sogar negativ reagieren. Poehlmann konnte eine Abschwächung bei 10 Proz. und eine komplette Hämolyse bei 8 Proz. sicher positiv reagierender Luessera feststellen. Im ganzen ist also nach diesen Untersuchungen das Trockenkomplement, wiewohl dem frischen unterlegen, als brauchbar zu bezeichnen, wenn seine geringere Bindungsfähigkeit vom Untersucher in gebührender Weise berücksichtigt wird.

Angesichts dieser verschiedenen Urteile erscheint es mir nicht ohne Interesse, über die Ergebnisse von Untersuchungen, die ich in Gemeinschaft mit Frl. Scheerer über den Wert des Trockenkomplementes ausgeführt habe, kurz zu berichten. Die Versuche waren bereits für den März 1924 in Aussicht genommen, mußten aber aus äußeren Gründen bis zum Herbst 1925 zurückgestellt werden. Die bereits im Frühjahr 1924 bezogenen Proben des Trockenkomplementes (Fabrikationsnummer 92, 93 und 94) wurden während dieser Zeit in den Originalpackungen versehentlich nicht im Eisschrank, sondern vor Licht geschützt bei Zimmertemperatur aufgehoben. Dieser offenbar unzweckmäßigen Aufbewahrung ist es wohl vor allem zuzuschreiben, daß die Proben im Herbst 1925 sich durch schwere Löslichkeit auszeichneten und ihre hämolytische Kraft völlig eingebüßt hatten, also praktisch unbrauchbar geworden waren. Im Gegensatz dazu haben verschiedene neubezogene

Präparate nach annähernd halbjähriger Aufbewahrung bei Eisschranktemperatur ihre leichte Löslichkeit und hämolytische Kraft anscheinend unverändert beibehalten.

Die von mir untersuchten Fabrikationsnummern des Trockenkomplementes (Nr. 322, 323, 327, 402) zeigten bei der Prüfung ihrer hämolytischen Kraft nicht die gleiche Wirksamkeit. Während die Präparate 322, 323 und 327 in 20 Versuchen bei der Einstellung des Ambozeptors, von einzelnen geringfügigen Schwankungen abgesehen, annähernd dieselben Titerwerte wie frisches Komplement ergaben, blieb das hämolytische Vermögen der Probe 402 fast immer beträchtlich hinter dem des frischen Serums zurück. Als Durchschnitts-Ambozeptortiterdosis wurde in 8 Versuchen bei Verwendung von Trockenkomplement 402 die Verdünnung 1:2100 ermittelt, d. h. 0,5 ccm Ambozeptor 1:2100 führte im Verein mit 0,5 ccm der aus dem Trockenpräparat gewonnenen zehnfachen Komplementverdünnung zur völligen Hämolyse von 0,5 ccm einer 5proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung. Demgegenüber ergab frisches Komplement eine durchschnittliche Ambozeptortiterdosis von 1:3900, seine Wirksamkeit war also fast doppelt so stark wie die des Trockenpräparates. Ein entsprechendes Verhalten zeigten die mittels der 4fachen Ambozeptortiterdosis ermittelten Komplementtiterwerte. Der Durchschnittstiter der Präparate 322, 323 und 327 verhielt sich zum Durchschnittstiter der frischen Komplemente wie 0,198:0,17, blieb also nur unerheblich hinter diesem zurück. Beim Trockenkomplement 402 betrug demgegenüber das entsprechende Verhältnis 0,23:0,12, seine hämolytische Wirksamkeit war also nur halb so stark wie diejenige von frischem Meerschweinchenserum.

Besonders auffällig traten diese Unterschiede hervor, als wir uns vorübergehend mit dem Blut trächtiger Schafe behelfen mußten, da nichtträchtige oder männliche Tiere eine zeitlang auf dem hiesigen Schlachthof nicht angetrieben wurden. Die Blutkörperchen trächtiger Schafe sind für die Ausführung von Hämolyseversuchen wenig geeignet, weil zur Herstellung einer Aufschwemmung von normaler Dichtigkeit mehr Blut als 5 Proz. gebraucht wird und für die komplette Hämolyse größere Ambozeptormengen benötigt werden als beim Normalblut. Diese Nachteile machten sich besonders beim Trockenkomplement 402 bemerkbar und gaben hier außerdem Veranlassung, bei der spezifischen Komplementbindung im Hauptversuch nicht, wie üblich, die 4fache, sondern die 8fache Ambozeptortiterdosis zu verwenden, um unspezifische Hemmungen zu vermeiden.

Die hämolytische Wirksamkeit des Trockenkomplementes bleibt also, wie aus diesen Untersuchungen hervorgeht, nicht bei allen Fabrikationsnummern gleichmäßig erhalten. Immerhin läßt sich im Hinblick auf die günstigen Ergebnisse, die mit den übrigen Proben erzielt wurden, annehmen, daß durch Vervollkommnung des Verfahrens die Gewinnung gleichmäßig wirkender Präparate sich ermöglichen lassen müßte.

Zur Prüfung der Bindungsfähigkeit wurde zunächst die spezifische Komplementablenkung in Anwendung gebracht, da diese für genauere Vergleiche auch in quantitativer Hinsicht besonders geeignet erschien. Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe von Eiweiß-Antiseren gegen das homologe Antigen ausgewertet unter Verwendung von frischem Meerschweinchenserum einerseits und Trockenkomplement andererseits. Das als Antigen dienende Serum wurde in der Verdünnung 1:10000

mit fallenden Mengen des Antiserums und 0,5 ccm Komplement (1/10) 1/2 Std. bei 37° C gehalten und dann mit sensibilisiertem Hammelblut aufgefüllt. Als Titer wurde diejenige Antiserummenge bezeichnet, die nach 1/2 Std. eine komplette Hemmung der Hämolyse ergeben hatte.

In dieser Weise habe ich 6 Pferde-, 11 Rinder- und 6 Schweine-Antisera, im ganzen also 23 Antisera ausgewertet. Bei 7 Proben ergab die Untersuchung mit frischem und Trockenkomplement übereinstimmende Titerwerte, bei den übrigen 16 Antiseren führte dagegen das frische Meerschweinchenserum zu teilweise erheblich höheren Grenzzahlen. Als Durchschnitt aller Untersuchungen, deren protokollarische Wiedergabe im einzelnen zu weit führen würde, zeigten die Antisera bei Verwendung von Trockenkomplement einen Titer von 0,019. Mit frischem Komplement betrug der durchschnittliche Titerwert dagegen 0,013, war also etwa um ein Drittel höher.

Die Bindungsfähigkeit des Trockenkomplementes im spezifischen Komplementablenkungsversuch ist also, wie aus diesen Untersuchungen hervorgeht, geringer als diejenige des frischen Meerschweinchenserums. Dieser Nachteil muß natürlich bei der Austitrierung des Antiserums berücksichtigt werden, kann aber durch höhere Antiserum-Gebrauchsdosen ausgeglichen werden und wird dann zu Störungen keinen Anlaß geben. Nur weniger wirksame Präparate und ungeeignetes Blut (z. B. von trächtigen Schafen) werden außerdem besondere Vorsicht bei der Bestimmung der zweckmäßigen Ambozeptorgebrauchsdosis erforderlich machen. Das zeigte sich bei meinen Untersuchungen, als ich unter den erwähnten ungünstigen Bedingungen die in den Vorversuchen ermittelte doppelte Antiserum-Titerdosis unter Verwendung von frischem und Trockenkomplement auch auf die heterologen Antigene einwirken ließ. Während in den mit frischem Komplement beschickten Röhrchen, wie zu erwarten war, überall komplette Hämolyse aufgetreten war, wiesen die mit dem Trockenpräparat angesetzten Proben eine mehr oder weniger ausgesprochene Hemmung auf. Erst als die Ambozeptor-Gebrauchsdosis vom Vierfachen auf das Achtfache des Titerwertes erhöht wurde, blieben diese unspezifischen Hemmungen aus. Bei Verwendung der 8fachen Ambozeptor-Titerdosis konnte auch die serobiologische Identifizierung einiger Rinderhackfleischproben im Komplementbindungsversuch mit Rinderantiserum und Trockenkomplement einwandfrei durchgeführt werden. Bei Beobachtung der genannten Vorsichtsmaßregeln kann demnach das Trockenkomplement auch für die praktischen Zwecke der serobiologischen Eiweißdifferenzierung als brauchbarer Ersatz des frischen Meerschweinchenserums bezeichnet werden.

In höherem Maße als bei der spezifischen Komplementbindung muß sich die geringere Bindungsfähigkeit des Trockenkomplementes bei der Wassermann-Reaktion bemerkbar machen. Während wir es bei der biologischen Eiweißdifferenzierung mit bekannten, hochwertigen Antiseren zu tun haben, deren Gebrauchsdosis wir, der Eigenart des Komplementes entsprechend, beliebig einstellen können, soll bei der WaR. ein unter Umständen nur geringer Gehalt des Patientenserums an Luesreaginen erst ermittelt werden. Wir sind also an eine bestimmte, auch amtlich vorgeschriebene Serumverdünnung (1:5) gebunden, unter die wir nicht heruntergehen dürfen, ohne die Spezifität der Reaktion zu gefährden. Es ist ohne weiteres verständlich, daß unter diesen Um-

ständen sich die geringere Bindungsfähigkeit des Trockenkomplementes in verstärktem Maße geltend machen muß.

Die Bindungsfähigkeit des Trockenkomplementes bei der Wassermann-Reaktion habe ich im ganzen an 307 Seren geprüft, welche der serologischen Abteilung zur Untersuchung auf Syphilis zugesandt worden waren. Neben stark positiven und sicher negativen Proben wurden vor allem solche Sera für die Versuche ausgesucht, die nach der Originalmethode nur schwach positiv (+) oder nicht ganz negativ (±) reagiert hatten. Für die Untersuchung der meisten Sera (258) wurden die Trockenpräparate Nr. 322, 323 und 327 benutzt, die, wie bereits erwähnt, annähernd ebenso stark hämolytisch wie frisches Meerschweinchenserum wirkten. Mit dem durch geringere hämolytische Kraft ausgezeichneten Trockenkomplement 402 wurden die übrigen 49 Sera untersucht. Wie hier gleich bemerkt sei, haben sich besondere Unterschiede, etwa in dem Sinne, daß der geringeren hämolytischen Wirksamkeit nun auch eine auffällig herabgesetzte Bindungsfähigkeit entsprochen hätte, dabei nicht ergeben.

Alle Sera wurden gleichzeitig immer auch mit frischem Komplement untersucht, das am Vortage entnommen und nachts im Eisschrank aufbewahrt worden war. Die Untersuchung erfolgte mit 3 cholesterinierten Herzextrakten nach der Originalmethode mit der Abänderung, daß die Gemische zur Bindung zuerst $^1/_2$ Std. bei Eisschranktemperatur und dann eine weitere $^1/_2$ Std. im Wasserbade bei 37° C gehalten wurden. Außerdem wurde jedes Serum noch mit einem Extrakt unter Verwendung einer geringeren, der jeweiligen Komplementstärke angepaßten Komplementmenge besonders untersucht, um den bei der Originalmethode in der Regel zu großen Komplementüberschuß zu vermeiden. In der folgenden Uebersicht habe ich die Ergebnisse dieser Untersuchungen zu einander in Beziehung gebracht, um die Wirksamkeit beider Komplemente zu veranschaulichen.

Ergebnisse der WaR. mit		Zahl der Fällle
frischem Komplement	Trockenkomplement	
I positiv (± — +++)	positiv (± — +++)	153 } 231 = 75 Proz.
II negativ (—)	negativ (—)	78 }
III positiv (++ — +++)	schwach positiv (± — +)	25 = 8 Proz.
IV „ (++ — +++)	negativ (—)	2 } 43 = 14 Proz.
V schwach positiv (± — +)	„ (—)	41 }
VI negativ (—)	schwach positiv (± — +)	8 = ca. 3 Proz.
	Gesamt	307

Wie aus dieser Zusammenstellung hervorgeht, hatten bei Verwendung von frischem und Trockenkomplement von 307 Proben 231 = 75 Proz., übereinstimmend reagiert. Unter den 153 positiven Seren sind hier alle Proben zusammengefaßt worden, bei denen das Ergebnis als stark oder schwach positiv oder auch als nicht ganz negativ bezeichnet worden war. Auch hier ergaben sich gelegentlich schon geringfügige quantitative Unterschiede in dem Reaktionsausfall zwischen den einzelnen Extrakten, und zwar in der Regel zugunsten des frischen Komplementes, jedoch waren diese Differenzen nicht so ausgesprochen, um zu einer Aenderung der endgültigen Diagnose Anlaß zu geben.

Anders bei den Reihen III—VI, wo das Endergebnis durch die Art des benutzten Komplementes entscheidend beeinflußt wurde. 25 Sera (= 8 Proz.), die sich mit frischem Komplement als stark (+++), bzw. deutlich (++) positiv erwiesen hatten, reagierten bei Verwendung von Trockenkomplement nur noch schwach positiv (+) oder nicht ganz negativ (±). Noch ausgesprochener war die Abschwächung bei weiteren 43 Proben (= 14 Proz.), die mit frischem Meerschweinchenserum ein mehr oder weniger deutlich positives, mit Trockenkomplement dagegen ein völlig negatives Resultat geliefert hatten. Ihnen gegenüber stehen nur 8 Sera, d. h. weniger als 3 Proz., die lediglich mit dem Trockenpräparat eine fast immer nur angedeutete Reaktion ergeben hatten.

Aus diesen Ergebnissen geht in Uebereinstimmung mit den bei der spezifischen Komplementbindung erhobenen Befunden hervor, daß sich auch bei der Wassermann-Reaktion die geringere Bindungsfähigkeit des Trockenkomplementes einwandfrei nachweisen läßt. Während sich nun bei der spezifischen Komplementablenkung dieser Nachteil durch die Erhöhung der Antiserum-Gebrauchsdosis ausgleichen läßt, führt bei der WaR. die geringere Bindungsfähigkeit des Trockenkomplementes zu einer ausgesprochenen Abschwächung der Reaktion in 8 Proz. und zu einem völligen Verlust der positiven Diagnose in 14 Proz. der Fälle. Die letztere Zahl ist nicht unwesentlich höher als der von Poehlmann ermittelte Wert von 8 Proz., der den praktischen Verhältnissen besser entsprechen dürfte, da für unsere Untersuchungen besonders ausgesuchte Sera verwendet wurden. Immerhin ist dieser Verlust doch so groß, daß sich die Frage erhebt, ob sich unter diesen Umständen die alleinige Benutzung von Trockenkomplement bei der WaR. rechtfertigen läßt.

Auch bei Verwendung von frischem Komplement können einzelne schwach positive Sera, wie aus der Zusammenstellung ersichtlich ist, der Feststellung entgehen. Unter den 8 lediglich mit Trockenkomplement erhaltenen Reaktionen muß eine allerdings als unspezifisch angesprochen werden, da sie weder durch den klinischen Befund noch durch die anderen serologischen Untersuchungen gestützt werden konnte. Von den übrigen 7, welche durchweg behandelte Luesfälle betrafen, konnten 6 durch die Sachs-Georgi- oder Meinicke-Reaktion (DM), bzw. durch beide Ausflockungsverfahren bestätigt werden. Hierdurch wird also der Verlust, der bei alleiniger Verwendung von frischem Komplement entstanden wäre, fast völlig ausgeglichen und kann jedenfalls keinen Anspruch auf praktische Bedeutung erheben.

Während die durch ein etwaiges Versagen des frischen Komplementes bedingten Fehldiagnosen zu den Seltenheiten gehören und in der Regel durch das Ergebnis der Ausflockungsreaktionen berichtigt werden können, liegen die Verhältnisse bei den durch das Trockenkomplement verursachten Verlusten nicht so günstig. Abgesehen von ihrer größeren Häufigkeit, ist vor allem zu berücksichtigen, daß es sich fast immer um schwach reagierende Fälle handelt, bei denen erfahrungsgemäß auch die Ausflockungsreaktionen relativ oft im Stiche lassen. So wird es verständlich, daß von den obigen 43 Serumproben, die mit dem Trockenkomplement eine negative WaR. ergeben hatten, 17 = 40 Proz. auch nach Sachs-Georgi und Meinicke (D.M.) negativ reagierten. Von den übrigen 26 reagierten 9 nur nach Sachs-Georgi, 6 nur nach Meinicke und 11 nach beiden Methoden positiv. Jedenfalls wird man bei alleiniger Verwendung von

Trockenkomplement besonderes Gewicht auf die gleichzeitige Heranziehung möglichst mehrerer Ausflockungsverfahren, wie sie heutzutage ohnehin wohl allgemein geübt wird, legen müssen. Dabei wird aber immer zu berücksichtigen sein, daß auch bei diesem Vorgehen eine gewisse Zahl von schwachen sog. Grenzreaktionen der Feststellung entgehen wird. Allzu hoch wird dieser Verlust allerdings nicht zu veranschlagen sein. Bei unserem kleinen und überdies ausgesuchten Gesamtmaterial betrug er rund 5 Proz., in der Praxis wird er aber wohl geringer sein. Angesichts der großen Vorteile, welche die Benutzung von Trockenkomplement namentlich für kleinere Anstalten und Laboratorien bedeutet, dürfte deshalb sein Gebrauch für rein praktische Zwecke bei gleichzeitiger Heranziehung verschiedener Ausflockungsverfahren als zulässig erscheinen, wenngleich es dem frischen Meerschweinchenserum zunächst nicht gleichwertig ist. Größere Institute, die ohnehin zur Haltung eines größeren Tierbestandes genötigt sind, werden gut tun, bis auf weiteres an der Verwendung von frischem Komplement festzuhalten.

Zusammenfassend läßt sich also aus meinen Untersuchungen schließen, daß die hämolytische Wirksamkeit des Trockenkomplementes nicht bei allen Fabrikationsnummern gleichmäßig erhalten bleibt. Seine Bindungsfähigkeit im spezifischen Komplementablenkungsversuch ist geringer als diejenige von frischem Meerschweinchenserum. Dieser Nachteil kann indes durch zweckmäßige Einstellung der Antiserum-Gebrauchsdosis ausgeglichen werden. Ebenso können unspezifische Hemmungen, wie sie namentlich bei Verwendung von ungeeignetem Blut (z. B. von trächtigen Schafen) auftreten, durch Erhöhung der Ambozeptor-Gebrauchsdosis auf das 8fache des Titerwertes vermieden werden. Bei Beobachtung dieser Vorsichtsmaßregeln kann das Trockenkomplement für die praktischen Zwecke der biologischen Eiweißdifferenzierung als brauchbarer Ersatz des frischen Meerschweinchenserums bezeichnet werden. Auch bei der Wassermann-Reaktion läßt sich die geringere Bindungsfähigkeit des Trockenkomplementes einwandfrei nachweisen und führt hier nicht selten teils zu einer Abschwächung der Reaktion (8 Proz.), teils zu einem völligen Verlust der positiven Diagnose (14 Proz.) bei schwach reagierenden Fällen. Der Ausfall an positiven Reaktionen wird durch die Ergebnisse der Ausflockungsmethoden (S.G.R., D.M.) in 60 Proz. der Fälle ausgeglichen. Die alleinige Verwendung von Trockenkomplement für Wassermann-Untersuchungen erscheint deshalb nur bei gleichzeitiger Heranziehung möglichst mehrerer Flockungsverfahren und gebührender Berücksichtigung seiner geringeren Leistungsfähigkeit berechtigt.

Literatur.

1) Gäde u. Straub, Biochem. Ztg. Bd. 165. 1925. S. 247. — 2) Königsfeld, Klin. Wochenschr. 1923. S. 1649. — 3) Pokorná, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 80. 1925. S. 444. — 4) Schmitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925. S. 177. — 5) Kuznitzky, Klin. Wochenschr. 1925. S. 923. — 6) Stern, M., Deutsch. med. Wochenschr. 1925. S. 397. — 7) Poehlmann, Münch. med. Wochenschr. 1925. S. 222. — 8) Schilf, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. S. 438.

Versuche mit dem Trockenkomplement „Pharmagans“ bei der Wassermann-Reaktion.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (stellvertr. Direktor: Professor Dr. Carl Prausnitz).]

Von Dr. **Friedrich Schilf**, Assistent am Institut und **Helene Klug**, Technische Assistentin[1]).

Seit der 1. Mitteilung, die der eine von uns in dieser Zeitschrift über die Eignung des nach dem Verfahren von Gäde und Straub konservierten Meerschweinchen-Trockenkomplements für die Wassermann-Reaktion machte, sind einige weitere Ergebnisse auch von anderer Seite mitgeteilt worden. Das Herstellungsverfahren besteht, wie aus der jetzt vorliegenden Veröffentlichung ersichtlich, darin, daß das frisch gewonnene Serum von einer größeren Anzahl Meerschweinchen im Vakuum bei einer Temperatur von etwa + 6° versprüht wird und die entstandenen Tröpfchen darauf sofort bei + 50 bis 80° verdampft werden. Das Wasser des frischen Serums wird dabei in Dampfform über konzentrierte Schwefelsäure geleitet und von dieser absorbiert, während die übrigen Bestandteile des Serums, völlig getrocknet, sich im Verstäubungsraum selbst ansammeln. Der ganze Prozeß der Trocknung spielt sich in Bruchteilen von Sekunden ab, und es ist klar, daß durch dieses Verfahren auch die labilsten Stoffe des Serums so schonend, wie möglich, behandelt werden. Wie schonend die Trocknung vor sich geht, ergibt sich daraus, daß auf diese Art getrocknete Milch — der Apparat kann natürlich auch zur Trocknung anderer Flüssigkeiten verwandt werden — bei Wiederauflösung noch nach Monaten gerinnungsfähig ist und auch die Schardinger-Reaktion gibt wie Frischmilch, ferner behält so getrockneter Hefepreßsaft seine Zymasewirkung. Während das Trockenkomplement früher in kleinen Gefäßen aus klarem weißen Glas mit eingeschliffenem und lackiertem Stopfen aufbewahrt wurde, findet die Aufbewahrung jetzt in abgeschmolzenen Ampullen aus dunklem Glas statt, und zwar unter Ersatz der Luft durch ein indifferentes Gas. Trotz dieser Verbesserungen haben aber die Prüfungen an den verschiedenen Stellen noch kein einheitliches Ergebnis erzielt.

Wir konnten auf Grund unserer ersten Versuche feststellen, daß der Ablauf der Hämolyse im Wassermann-Versuch unter Verwendung des Trockenkomplements („TrK“) bei nichtsyphilitischen Seren fast stets in einwandfreier Weise erfolgt, daß dagegen bei syphilitischen Seren zuweilen mehr oder weniger starke Hämolyse eintritt in Fällen, die bei Verwendung frischen Meerschweinchenkomplements („FriK“) stark positiv reagierten. Trotz dieses Mangels glaubten wir jedoch, die Hoffnung aussprechen zu können, daß bei sorgfältiger Einübung der Technik des Arbeitens mit TrK und noch weiterer Vervollkommnung

1) Der 1. Teil der Versuche wurde zum Teil von mir gemeinsam mit der Technischen Assistentin, Fräulein Rilke, ausgeführt.

der Herstellung dieses Präparat einen vollwertigen Ersatz für FriK liefern würde.

Poehlmann dagegen ist auf Grund seiner Versuche nicht geneigt, das TrK mit dem FriK in Wettbewerb treten zu lassen. Er fand trotz völlig erhaltener hämolytischer Kraft eine verminderte Bindungsfähigkeit des TrKs, der zufolge seine praktische Verwendbarkeit nicht in Frage käme. Aehnlich äußert sich M. Stern über ihre erste Versuchsserie.

In ablehnendem Sinne spricht sich auch Kuznitzky über das TrK aus. Ihm fiel vor allem die stark verzögerte Lösung auf, einerseits bei der Ambozeptortitration, die erst nach 1 Std. etwa denselben Grad erreichte, wie bei dem FriK nach $^1/_2$ Std., andererseits auch im Wassermann-Hauptversuch. Dieser fiel das eine Mal bei 54 Seren unter Anwendung einer stärkeren Ambozeptordosis als beim FriK befriedigend aus. In einer anderen Versuchsreihe mit 160 Seren konnte er aber auf Grund der Ergebnisse Wredes nicht mehr dasselbe Resultat erzielen. Die nichtsyphilitischen Seren, die Serumkontrollen, die Extraktkontrollen und das hämolytische System blieben zum größten Teil unvollständig gelöst. Demgegenüber hält Schmitz, der das TrK an 154 Seren im Wa-Versuch prüfte, dieses zur erfolgreichen Verwendung an Stelle von FriK für geeignet. Auch die Ergebnisse von Nai sowohl bezüglich der Wirkung des TrKs im hämolytischen System, wie seiner Brauchbarkeit bei der Komplementbindung, die er bei Rotz, beim seuchenhaften Abort der Rinder, bei Meningitis, Echinokokkus, Milzbrand, Gonorrhoe prüfte, sprechen für die Eignung des TrK an Stelle des FriK. Vor allem interessieren hier seine Versuche bei der WaR., in denen er an 139 teils negativen, teils positiven, teils zweifelhaften syphilitischen Seren fast völlige Uebereinstimmung zwischen dem TrK und dem FriK erzielen konnte. Gleich günstige Resultate hatte Pokorná. Bei 208 Seren, die sie bezüglich ihrer Komplementbindung im Wa-Versuch, bzw. auf Gonokokken-Komplementbindung prüfte, konnte sie in 97,6 Proz. Uebereinstimmung feststellen. Sie empfiehlt an Stelle von Aqua dest. zur Auflösung physiol. NaCl-Lösung zu benutzen; gerade hierauf führt sie die guten Resultate ihrer Versuche zurück. Ferner liegen zustimmende Urteile vor von Busacchi und Ceredi, die auf Grund der Untersuchung an 153 Seren und Lumbalflüssigkeiten das unveränderte Erhaltenbleiben der hämolytischen Kraft und, im Gegensatz zu Poehlmann, auch des Bindungsvermögens beim TrK hervorheben, und von Moses (keine Zahlenangaben!), der bei der Komplementbindung nach Wassermann völlige Uebereinstimmung zwischen TrK und FriK gefunden hat.

Pollak weist unter Hervorhebung der fast völligen Gleichwertigkeit des TrKs und des FriKs, besonders, wenn dem ersteren eine kleine Menge FriK hinzugefügt wird, auf die Bedeutung des TrKs für die bakteriologischen Feldlaboratorien hin. Wegen der geringen Zahl der bisher untersuchten Sera in den einzelnen Versuchsreihen konnte freilich allen diesen Ergebnissen noch keine entscheidende Bedeutung beigemessen werden. Die Prüfung des TrKs in größeren Versuchsreihen war daher erforderlich. M. Stern und T. Frank berichteten erst kürzlich über derartige umfangreichere Untersuchungen. Ihre Ergebnisse bei 1284 Seren waren im Wa-Versuch bei gleichzeitiger Kontrolle mit FriK folgende:

Die Gesamtzahl der Uebereinstimmungen betrug 97,6 Proz., bei 23 Differenzen war der TrK-Wassermann 21mal häufiger negativ und 2mal häufiger positiv. Die erforderliche Ambozeptormenge war für das TrK meistens doppelt so stark, wie für das FriK. Die Verff. geben daher dem TrK keinen Vorzug vor dem FriK, sagen aber: „Da aber die Unterschiede in den Resultaten bei Verwendung von Trocken- und Frischkomplement nur gering sind und nach unseren einstweiligen Erfahrungen nicht viel mehr ins Gewicht zu fallen scheinen als die bei Verwendung von verschiedenen Frischkomplementgemischen, kann das Trockenkomplement in der Praxis verwendet werden.“

Im Anschluß an unsere früheren Versuche haben wir bereits vor einiger Zeit ebenfalls die Nachprüfung des TrKs an einer größeren Zahl positiver und negativer Seren im Wa-Versuch begonnen. Das dazu erforderliche TrK wurde uns dankenswerterweise von der Firma Pharmagans erneut zur Verfügung gestellt. Diese Versuche konnten jetzt zum Abschluß gebracht werden und gestatten nunmehr ein zusammenfassendes Urteil. Sie wurden in der gleichen Weise wie früher vergleichend mit den regelmäßigen Wa-Untersuchungen in dem, dem Institut angegliederten Medizinaluntersuchungsamt vorgenommen. Das Material setzte sich daher aus Seren der verschiedensten Herkunft zusammen, je nachdem, wie es von den praktischen Aerzten der Umgegend und den hiesigen Kliniken eingesandt wurde. Für jedes Serum wurde am gleichen Tage je eine Versuchsreihe mit FriK und TrK angesetzt. Außerdem wurde noch die Sachs-Georgi- und die III. Meinicke-Reaktion[1]) angestellt. Für jeden Untersuchungstag wurden auch mit dem TrK Ambozeptorauswertung und Vorversuch mit je 2 syphilitischen und 2 nichtsyphilitischen Kontrollseren ausgeführt. Der Hauptversuch wurde erst dann angesetzt, wenn für jedes Komplement der zugehörige Vorversuch einwandfrei ausgefallen war.

Auflösung des TrKs.

Unsere früheren Versuche hatten ergeben, daß die Lösung des TrKs nicht vollständig vor sich geht, und daß meistens noch eine kleine Menge mehr oder weniger feiner Partikel in der Lösung, auch nach längerem Stehen, erhalten bleibt; etwas bessere Auflösung hatten wir erzielen können bei Verwendung von 0,1proz. NaCl-Lösung an Stelle des Aqua dest. In unseren jetzigen Versuchen war die Löslichkeit des TrKs so viel besser, daß von der Verwendung der 0,1proz. NaCl-Lösung abgesehen und stets nur Aqua dest. benutzt werden konnte. Es ist anzunehmen, daß diese bessere Löslichkeit vor allem durch die verbesserte Art der Aufbewahrung erreicht wird. Immerhin war aber auch jetzt die Auflösung keine ganz vollständige, im Gegensatz zu dem Befunde M. Sterns, die bereits in ihrer 1. Veröffentlichung über die restlose Auflösung des TrKs berichtet. Die fertige Lösung sah stets noch etwas trübe aus, und auch in den daraus hergestellten Verdünnungen ließen sich meistens mit der Lupe noch feine suspendierte Teilchen erkennen, jedoch wurde dadurch die Ablesbarkeit der Resultate nicht beeinträchtigt. Durch Wattefiltration konnten diese Reste von Trübung

1) Der Ausfall der Meinicke-Reaktion war im allgemeinen der gleiche wie bei der Sachs-Georgi-Reaktion, er wurde daher bei der Zusammenfassung nicht besonders berücksichtigt.

nicht vollständig beseitigt werden. Auch längeres Stehenlassen, z. B. über Nacht im Frigolo, oder bei Zimmertemperatur, ergab keine besseren Resultate. Ein bezüglich seiner Klarheit völlig einwandfreies Komplement erhielten wir dagegen, wenn wir die Lösung einige Minuten zentrifugierten. Das Fehlen des zurückbleibenden weißlichen Bodensatzes, der etwa den 70sten Teil des Gewichtes vom ungelösten TrK betrug, in den weiteren Verdünnungen hatte keinen Einfluß auf die Wirksamkeit des TrKs, da derart behandelte Lösungen niemals eine Aenderung in dem Ausfall der WaR. gegenüber anders hergestellten ergaben.

Die nun folgenden Versuche müssen in 2 Gruppen geteilt werden, da sie sich durch die Technik bezüglich der Feststellung des Ambozeptortiters unterscheiden. In dem 1. Teil der Versuche wurde dieser in der üblichen Weise für das hämolytische System bestimmt, und für den Hauptversuch das 5fache der so ermittelten kleinsten lösenden Dosis verwandt. Da diese Versuche, die an 929 Seren und Lumbalflüssigkeiten ausgeführt wurden, den Versuchen der 2. Gruppe zeitlich vorausgehen, werden sie hier zunächst für sich besprochen.

I. Teil.

Ambozeptortitration (Tabelle I).

Die Untersuchung der Sera dieses 1. Teils wurde in 40 Versuchsreihen vorgenommen. Das Ergebnis der Ambozeptortitration zeigt Tabelle I. Es wurden 7 Untersuchungsreihen mit Gemischen von je 2 Operationsnummern des TrKs, die übrigen 33 mit je einer Operationsnummer, im ganzen 40 Reihen, ausgeführt. Solche Mischungen wurden vorgenommen, einerseits, weil die zur Verfügung stehenden Mengen einer Operationsnummer für einen Versuch zuweilen nicht ausreichten, andererseits, um etwaige kleine Differenzen der einzelnen Operationsnummern auszugleichen. Die zur Hämolyse erforderliche Ambozeptormenge betrug niemals unter 0,1 ccm oder über 0,3 ccm einer eintausendfachen Verdünnung. In der Mehrzahl der Fälle war die Ambozeptormenge für beide Komplemente gleich, in 16 Versuchen um höchstens 0,1 ccm verschieden, und zwar 14mal für das TrK höher, 2mal für das FriK höher. Die Hämolyse verlief bei dem TrK im allgemeinen langsamer, so daß nach 30 Min. Wasserbadaufenthalt bei 37^0 meistens noch keine Ablesung möglich war, nach 40—50 Min. dagegen waren die Röhrchen stets so weit gelöst, daß der Titer für den Ambozeptor bestimmt werden konnte. Erwähnt werden muß aber, daß die Auflösung der Blutkörperchen zuweilen nicht ganz vollständig war, und daß in diesen Fällen auch in den am stärksten gelösten Röhrchen noch ein, wenn auch geringer, Bodensatz von Erythrozyten festzustellen war. Man würde bei der üblichen Ablesung diese Fälle als „fastfast komplett“ bezeichnen. Da dieser Bodensatz in allen, sonst gelösten Röhrchen gleich stark war, darf man wohl hier von einer geringen unspezifischen Hemmung sprechen; sie beruht wahrscheinlich auf der verminderten Bindungsfähigkeit des Trks, auf die Poehlmann hingewiesen hat. Es war daher manchmal nicht ganz leicht, den Titer des Ambozeptors mit scharfer Grenze zu bestimmen, so daß man in diesen Fällen den Unterschied in der restlichen Trübung abschätzen mußte, um die Grenze

der spezifischen Hämolyse zu finden[1]). Hämolyse durch TrK allein fehlte ausnahmslos.

Da sich diese ersten Versuche über eine längere Zeit erstreckten (März—November 1925), konnte auch die Frage entschieden werden, ob bei längerer Aufbewahrung Veränderungen des Präparates auftraten. Sie fand bei uns teils im Frigolo (Temperatur + 2° C), teils im kühlen, dunklen Keller (Temperatur zwischen + 8 und + 17° C) statt. Wie aus Tab. I ersichtlich, ist bei keiner der 7 Operationsnummern, zwischen

Tabelle I.
Ambozeptortortitration; Versuchsabschnitt 1.

Op.-Nr. d. Trk.	Dat. d. Unters.	Lösende Dosis der Verdünnung 1:1000	
		TrK	FriK
235	24. 4. 25.	0,3	0,2
235	27. 10. „	0,2	0,1
236	24. 3. „	0,2	0,2
236	31. 3. „	0,2	0,2
237	7. 4. „	0,3	0,3
237	1. 5. „	0,2	0,2
237	30. 10. „	0,3	0,3
238	21. 4. „	0,2	0,2
238	1. 5. „	0,2	0,2
238	6. 11. „	0,3	0,2
239	28. 4. „	0,3	0,2
240	28. 4. „	0,3	0,2
244	24. 4. „	0,3	0,2
244	6. 11. „	0,3	0,2
261	12. 5. „	0,3	0,2
261	15. 5. „	0,2	0,2
261	19. 5. „	0,3	0,2
269	16. 6. „	0,2	0,2
269	19. 6. „	0.2	0,2
269	23. 6. „	0,3	0,3
269	26. 6. „	0,3	0,2
269	30. 6. „	0,2	0,2
269	3. 7. „	0,3	0,3
269	7. 7. „	0,3	0,3
269	8. 9. 25.	0,2	0,2
269	25. 9. „	0,3	0,2
269	9. 10. „	0,2	0,2
269	23. 10. „	0,2	0,3
269	3. 11. „	0,2	0,2
270	12. 6. „	0,3	0,2
270	27. 10. „	0,2	0,2
270	30. 10. „	0,3	0,3
270	10. 11. „	0,2	0,2
278	10. 7. „	0,3	0,2
278	17. 7. „	0,3	0,3
278	21. 7. „	0,3	0,3
278	28. 8. „	0,3	0,3
278	1. 9. „	0,3	0,3
278	4. 9. „	0,2	0,3
278	11. 9. „	0,2	0,2
278	15. 9. „	0,1	0,1
278	18. 9. „	0,2	0,2
278	22. 9. „	0,2	0,1
278	2. 10. „	0,1	0,1
278	6. 10. „	0,3	0,2
278	13. 10. „	0,2	0,2
278	10. 11. „	0,2	0,2

deren erster und letzter Verwendung jeweils eine Zeit von mehreren Monaten liegt, eine nennenswerte Aenderung des Ambozeptortiters festzustellen gewesen.

Vorversuch.

Der Vorversuch wurde in diesem Teil der Versuche jedesmal entsprechend den staatlichen Vorschriften für die WaR. mit je 2 syphilitischen und 2 nichtsyphilitischen Seren ausgeführt unter Verwendung von 3 Extrakten, einem alkoholischen Luesleberextrakt, einem alkoholischen Meerschweinchenherzextrakt mit Cholesterinzusatz und einem alkoholischen Rinderherzextrakt mit Cholesterinzusatz. Im Gegensatz

1) Dieser Mangel des TrKs ist nun aber, wie hier gleich vorweggenommen werden soll, in dem 2. Teil dieser Versuche gänzlich geschwunden. Die Hämolyse bei der Ambozeptortitration ging dort stets glatt vonstatten, so daß nach 40 Min. die Titergrenze ohne Schwierigkeiten bestimmt werden konnte.

zu unseren früheren Versuchen, bei denen sich für das TrK das 4fache der bei der Ambozeptortitration ermittelten kleinsten Dosis als geeignete Ambozeptormenge erwiesen hatte, haben wir in diesen Versuchen stets das 5fache derselben Dosis verwenden können, wie es sonst bei unseren Wa-Untersuchungen mit FriK geschieht. Wo die Ambozeptortitration für TrK und FriK gleich ausgefallen war, wurde dabei im Vor- und Hauptversuch mit jedem Komplement die gleiche Ambozeptormenge verwendet; war sie verschieden, so wurde naturgemäß für die TrK-Vor- und Hauptversuche das 5fache der bei der Ambozeptortitration mit TrK ermittelten Titermenge verwendet, und entsprechend für das FriK das 5fache der mit FriK ermittelten Titermenge. Mit Ausnahme von 2 Malen verlief der Vorversuch jedesmal sofort glatt, d. h. die syphilitischen Sera zeigten volle Hemmung, die nichtsyphilitischen und die Extraktkontrollen waren komplett gelöst. In jenen 2 Fällen mußte eine etwas stärkere Ambozeptormenge genommen werden, als bei der Titration ermittelt worden war. Der Fehler beruhte das eine Mal (1. 5.) wahrscheinlich auf ungenauer Ablesung bei der Titration, das andere Mal (8. 9.) war die Ablesung durch die unspezifische Hemmung der Hämolyse verursacht, die sich zum Teil auch in den gelösten Röhrchen fand. Diese unspezifische Hemmung scheint eine Eigenart des TrKs zu sein, die sich bei nicht ganz vollkommener Technik der Herstellung öfter findet, denn auch Romanow hat mit dem von ihm nach eigenem Verfahren hergestellten TrK ähnliche Erfahrungen gemacht. Sie hat aber bei unserem Trk, wie bereits gesagt, in dem letzten Teil der Versuche gänzlich gefehlt.

Hauptversuch.

Der Hauptversuch wurde angesetzt, nachdem Ambozeptorauswertung und Vorversuch mit dem TrK einwandfrei verlaufen waren. Nur die Ergebnisse dieser mit dem TrK angestellten Versuche wurden dem Wa.-Hauptversuch für das TrK zugrunde gelegt.

Tabelle II.
Ausfall der Wassermann-Reaktion (Zahl der Fälle); Versuchsabschnitt 1.

Frischkomplement		Trockenkomplement						
		0	±	+	++	+++	Eigenhemmung	Uebereinstimmung Proz.
0	735	**711**	9	9	1	0	5	96,7
±	18	8	**9**	1	0	0	—	63,8
+	18	3	3	**10**	2	0	—	
++	31	4	0	10	**12**	5	—	80,3
+++	122	0	3	2	18	**98**	1	
Zus.	924							867 = 93,8

Zeichenerklärung:
+++ komplette Hemmung mit allen 3 Extrakten,
++ große Kuppe mit 2 Extrakten und kleine Kuppe mit dem 3. Extrakt oder große Kuppe mit 1 Extrakt und kleine Kuppe mit den anderen beiden Extrakten,
+ kleine Kuppe mit allen 3 Extrakten oder große Kuppe mit 2 Extrakten und Hämolyse mit dem 3. Extrakt,
± Hämolysehemmung geringeren Grades als in „+“.

Die Zahl der von uns in diesem 1. Teil der Versuche untersuchten Seren und Lumbalflüssigkeiten betrug 929 (912 Sera, 17 Lumbalpunktate). Davon waren wegen Eigenhemmung auch mit dem FriK für die Ablesung ungeeignet 5. Ueber die Lumbalflüssigkeiten, die nach dem Hauptmannschen Schema ausgewertet wurden, sind Besonderheiten nicht zu sagen. Sie waren teils positiv, teils negativ, und zeigten bis auf einen Fall, der mit dem TrK etwas gehemmt war, bei FriK und TrK genau den gleichen Verlauf. Sie wurden daher bei der Zusammenstellung mit den Seren zusammengefaßt. Das Ergebnis ist das folgende:

Der Ausfall der Reaktion mit FriK und TrK stimmte überein in 867 Fällen, das sind 93,8 Proz. Sie verteilen sich nach Tab. II, S. 183 in vorstehender Weise: Uebereinstimmung bei den positiven 80,3 Proz., bei den negativen 96,7 Proz., bei den fraglichen und schwach positiven 63,8 Proz. Von besonderem Interesse sind diejenigen Fälle, die mit dem FriK negativ reagierten, mit dem TrK dagegen mehr oder weniger starke Hemmung der Hämolyse zeigten. Es sind das 19 Fälle (Tabelle III). Davon waren 4 übereinstimmend mit Sachs-Georgi

Tabelle III.

Sera mit negativem FriK-Wassermann und positivem oder zweifelhaftem TrK-Wassermann in ihren Beziehungen zur Sachs-Georgi-Reaktion und zur klinischen Diagnose. Versuchsabschnitt 1.

Nr.	Wassermann-Reaktion		Sachs-Georgi-Reaktion	Klinische Diagnose
	mit Frischkomplement	mit Trockenkomplement		
1	—	±	+	Lues
2	—	++	++	Lues?
3	—	+	++	"
4	—	+	±	Lues I
5	—	±	—	Lues II
6	—	+	—	Lues III
7	—	±	—	Lues II
8	—	±	—	Tabes dors.
9	—	+	—	Lues II
10	—	+	—	Lues II
11	—	±	—	Lues?
12	—	±	—	"
13	—	±	—	"
14	—	+	—	fraglich
15	—	±	—	"
16	—	±	—	"
17	—	±	—	"
18	—	±	—	Gravida
19	—	±	—	"

fraglich oder positiv, und zwar mit der klinischen Diagnose Lues oder fragliche Lues. 6 Fälle hatten eine negative Sachs-Georgi-Reaktion, waren aber klinisch sichere Luesfälle. 7 weitere Seren waren ebenso wie mit FriK mit der Sachs-Georgi-Reaktion negativ und hatten entweder die klinische Diagnose fragliche Lues oder aber waren klinisch überhaupt zweifelhaft. 2 Fälle mit fraglichem TrK-Wassermann, die bei FriK-Wassermann und Sachs-Georgi ebenfalls negativ waren, waren Gravidae. Es scheint also, als ob bei den 10 erst-

genannten Fällen die Reaktion mit dem TrK schärfer war, als bei dem FriK, so daß diese Fälle, die mit FriK der Diagnose entgangen wären, noch als Luesfälle oder Luesverdachtsfälle erkannt werden konnten. Diesen stehen 15 Fälle mit negativem Ausfall der WaR. beim TrK gegenüber, die mit FriK positiv oder zweifelhaft waren.

Eine genaue Betrachtung der verschiedenen Hauptversuche läßt auch eine Bewertung der Haltbarkeit des TrK zu. Tab. IV zeigt,

Tabelle IV.
Zahl der Abweichungen beim Trockenkomplement bei der ersten und der letzten Verwendung derselben Operationsnummer des Trockenkomplements. Versuchsabschnitt 1.

Op.-Nr.	Datum	Zahl der Abweichungen	Datum	Zahl der Abweichungen
235	24. 4.	2 bei 36	27. 10.	0 bei 21
237	7. 4.	0 „ 19	30. 10.	1 „ 20
238	21. 4.	0 „ 23	6. 11.	1 „ 38
244	24. 4.	2 „ 36	6. 11.	1 „ 38
261	12. 5.	1 „ 21	19. 5.	0 „ 15
269	16. 6.	14 „ 20(!)	3. 11.	0 „ 27
270	12. 6.	0 „ 28	10. 11.	0 „ 40
278	10. 7.	0 „ 32	10. 11.	0 „ 40
278	18. 9.	8 „ 19(!)		

daß die Zahl der Abweichungen zwischen TrK und FriK zu allen Zeiten des Versuchs etwa gleich groß gewesen ist. Wenn an 2 Untersuchungstagen (16. 6. u. 18. 9.) die Abweichungen bei dem TrK zahlreicher waren als gewöhnlich, so dürfte dies wohl auf Versuchsfehler zurückgeführt werden, zumal diese Abweichungen sich bei Operationsnummern fanden, die in den übrigen zahlreichen Versuchen stets ohne auffallende Unterschiede benutzt wurden. Diese Uebersicht spricht entschieden für die unverminderte Haltbarkeit des TrKs.

Schon auf Grund dieser Versuche konnte das TrK, wenn auch nicht als dem FriK völlig gleichwertig, so doch als ein wertvoller Ersatz desselben bezeichnet werden. Die Vorzüge der guten Haltbarkeit, der gleichbleibenden, von der Jahreszeit unabhängigen Wertigkeit, des vereinfachten Arbeitens und des Wegfalls der durch die Tierhaltung bedingten Umständlichkeiten verschaffen ihm unbedingt Eingang in das Laboratorium des Serologen. Es lohnt sich daher, die Vollkommenheit dieses Präparates nach Möglichkeit so weit zu steigern, daß es dem FriK in jeder Beziehung gleichwertig wird. Diese Möglichkeit kann einerseits bei der Herstellung gegeben sein, andererseits läßt sie sich aber vielleicht durch Verbesserung der Arbeitsmethoden erreichen, die der Eigenart des TrKs anzupassen wären. Dies letztere haben wir mit einer zweiten Gruppe von Versuchen bezweckt, deren Ergebnisse wir im folgenden mitteilen. Das TrK der Firma Pharmagans wird seit einiger Zeit in der Breslauer Universitäts-Hautklinik auf seine Brauchbarkeit für die Komplementbindung regelmäßig geprüft. Die dort erzielten Ergebnisse waren bereits bisher so günstig, daß M. Stern die Verwendung des TrK für die Praxis empfehlen konnte. Wie uns von Fräulein Stern freundlicherweise mitgeteilt wurde, weicht nun die dort angewandte Technik der Komplementbindung bei der WaR. insofern von der üblichen Vorschrift ab, als die Ambozeptorauswertung nicht nur für das hämolytische System vorgenommen wird, sondern auch für jeden einzelnen Extrakt. Es ist das zweifellos eine Verfeinerung der

Technik, die im besonderen den antikomplementären Eigenschaften der Extrakte bei der WaR. in erhöhtem Maße Rechnung trägt, und auf die vielleicht die dortigen günstigen Resultate mit dem TrK zurückzuführen sind.

II. Teil.

Es wurde daher der 2. Teil unserer Versuche unter Anwendung dieser Technik ausgeführt. Für jeden Extrakt wurde eine Ambozeptortitration angesetzt, und zwar vergleichsweise mit FriK und TrK. Die dann für jeden Extrakt ermittelte kleinste lösende Dosis, die im allgemeinen das $1^1/_2$—2fache der für das hämolytische System allein ermittelten Menge betrug, wurde für den Hauptversuch verdoppelt. Man erhielt so für jeden Extrakt eine besonders eingestellte Ambozeptorverdünnung, die naturgemäß schärfer reagieren mußte, als wenn die Einstellung ohne Berücksichtigung der Extrakte nur für das hämolytische System erfolgt wäre (Tab. V). Die Tabelle zeigt, daß auch nach dieser Methode der Ambozeptorauswertung, genau wie im ersten Teil dieser Versuche, die lösende Dosis des Ambozeptors für das TrK in den meisten Fällen größer gewesen ist als für das FriK, in einigen war sie gleich groß, niemals geringer.

Tabelle V.
Ambozeptortitration; Versuchsabschnitt 2.

	Frischkomplement. Lösende Dosis der Verdünnung 1:500				Trockenkomplement. Lösende Dosis der Verdünnung 1:500				
Datum	Hämol. System	Extr. A	Extr. B	Extr. C	Hämol. Sytem	Extr. A	Extr. B	Extr. C	Oper.-Nr. d. Trk.
8. 1. 26.	0,2	0,25	0,2	0.25	0,25	0,4	0,3	0,3	405
12. 1. 26.	0.15	0,2	0,2	0,25	0,15	0,3	0,25	0,25	405
15. 1. 26.	0,15	0,2	0,2	0,25	0,2	0,3	0,25	0,25	405
17. 1. 26.	0,25	0,35	0,35	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	405
20. 1. 26.	0,1	0,2	0.2	0,4	0,15	0,25	0,2	0,25	406
22. 1. 26.	0,05	0,15	0,15	0,15	0,15	0,25	0,2	0.2	406
26. 1. 26.	0.1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,3	0,2	0,2	406
29. 1. 26.	0.1	0,15	0,15	0,15	0,1	0,2	0,15	0,15	407
2. 2. 26.	0,1	0,2	0,15	0,15	0,25	0,3	0,2	0,2	407
5. 2. 26.	0,1	0.15	0,15	0,15	0,15	0,3	0,15	0,15	407
9. 2. 26.	0,1	0,15	0,15	0,15	0,1	0,2	0,15	0,15	406/407
12. 2. 26.	0.1	0,2	0,15	0,15	0,25	0,45	0,25	0,25	407
16. 2. 26.	0,1	0,5	0,15	0,15	0,2	0,6	0,3	0,3	407
19. 2. 26.	0,1	0,25	0.15	0,15	0,15	0,4	0,2	0,2	407
23. 2. 26.	0.1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,35	0,25	0,25	407
26. 2. 26.	0,05	0,15	0,1	0,1	0,15	0,25	0,2	0,2	407

Mit den auf diese Art ermittelten Ambozeptormengen wurde der Wa-Hauptversuch in 16 Versuchsreihen an 493 Seren und 14 Lumbalflüssigkeiten ausgeführt, deren Ergebnis das folgende ist (Tab. VI). Eine Uebereinstimmung zwischen TrK und FriK wurde erzielt in 97,2 Proz. aller Untersuchungen. Für die negativen Seren betrug sie 97,8 Proz., für die positiven 97,5 Proz. Mit den Zahlen der Versuche unserer 1. Gruppe verglichen, ist das Ergebnis ein erheblich besseres. Während dort die Uebereinstimmung zwischen TrK und FriK höchstens 96,7 Proz. betrug, reicht sie in diesem Teil bis fast an 98 Proz. heran. Es ist das ein Ergebnis, wie es kaum günstiger gestaltet werden kann,

Tabelle VI.
Ausfall der Wassermann-Reaktion; Versuchsabschnitt 2 (Zahl der Fälle).

Frischkomplement		Trockenkomplement						Uebereinstimmung Proz.
		0	±	+	++	+++	Eigenhemmung	
0	412	**403**	7	0	2	0	0	97,8
±	7	0	**7**	0	0	0	0	—
+	8	1	1	**6**	0	0	0	—
++	9	0	0	0	**6**	3	0	} 97,5
+++	71	0	0	1[1])	5	**63**	2	
Zus.	507							493 = 97,2

und wie es etwa 2 Parallelreihen von Untersuchungen der gleichen Seren mit verschiedenem FriK entsprechen würde. Es handelt sich denn auch in den abweichenden Fällen (Tab. VII) meistens nur entweder

Tabelle VII.
Sera mit abweichendem Ausfall der Wassermann-Reaktion mit Frischkomplement und Trockenkomplement in ihren Beziehungen zur Sachs-Georgi-Reaktion und zur klinischen Diagnose. Versuchsabschnitt 2.

Nr.	Wassermann-Reaktion mit Frischkomplement	Wassermann-Reaktion mit Trockenkomplement	Sachs-Georgi-Reaktion	Klinische Diagnose
1	+++	++	—	Lues congenita
2	++	+	+	Lues
3	++	±	+	„
4	+	—	—	Lues?
5	+	++	—	Lues II
6	—	±	+	Alte Lues
7	—	+	++	Lues congenita
8	—	++	++	Alte Lues
9	—	++	—	Lues II
10	—	±	++	Lues?
11	—	±	±	Kopfschmerzen
12	—	±	±	fraglich
13	—	±	—	fraglich
14	—	±	—	„

um geringe graduelle Unterschiede im Ausfall der Reaktion, oder aber, und das muß besonders hervorgehoben werden, um einen schärferen Ausfall der Reaktion bei dem TrK, eine Tatsache, auf die wir in gewissen Fällen auch schon in dem ersten Teil dieser Versuche hinweisen konnten. Bei 5 mit FriK positiven Seren war die WaR. mit dem TrK 4mal schwächer, davon das eine Mal bei einem schwach positiven negativ, einmal stärker. Bei 9 mit FriK negativen Seren aber war der Ausfall der Reaktion entweder zweifelhaft, schwach positiv oder deutlich positiv, und zwar waren das 5 Fälle mit der klinischen Diagnose Lues, die auch mit der Flockungsreaktion nach Sachs-Georgi zum größten Teil positiv waren, 2 Fälle, die auch auf Grund einer zweifelhaften Sachs-Georgi-Reaktion bei Fehlen näherer kli-

1) Der Ausfall der Reaktion war: Extr. A —, Extr. B ++, Extr. C +++.

nischer Angaben als Luesfälle angesprochen werden konnten, und zwei weitere Fälle, die mit TrK zweifelhaft waren bei negativem FriK-Wassermann und negativer Sachs-Georgi-Reaktion, klinische Angaben waren hier nicht zu ermitteln. Wir sehen also, daß in einer Zahl von Fällen — es handelt sich um 2 Fälle alter Lues, einen Fall angeborener Lues, 2 Fälle von Lues II und 3 Fälle zweifelhafter Lues — die WaR. mit dem TrK schärfer ausfiel, als mit dem FriK. Schwächer dagegen war sie nur, abgesehen von den mit beiden Komplementen positiven Seren mit graduellen Unterschieden 2mal, d. h. in einem mit FriK schwach positiven Fall negativ, in einem anderen derartigen positiven Fall zweifelhaft.

Es ist uns so gelungen, bei der WaR. eine sehr weitgehende Übereinstimmung zwischen dem TrK und dem FriK zu erzielen. Im besonderen fanden sich bei dem TrK komplette Lösungen bei syphilitischen Seren fast gar nicht (1 Fall), und ebenso ließen sich Hemmungen der Hämolyse bei negativen Seren mit Sicherheit nicht nachweisen. Der weniger gute Ausfall in dem ersten Teil unserer Versuche ist sicher teilweise auf die andere Technik zurückzuführen, ferner aber war das verwendete TrK ein anderes. Die Versuche wurden dort ausschließlich mit nicht kontrollierten Präparaten ausgeführt. Trotzdem ist die Zahl der abweichenden Ergebnisse mit dem TrK auch in jener Versuchsreihe im allgemeinen nicht größer gewesen als sonst bei der Verwendung verschiedener Frischkomplemente mit gleichem Titer. Wir müssen daher die besseren Resultate der jetzigen Versuche zunächst gegenüber den Ergebnissen unserer ersten Mitteilung wohl auf die verbesserte Aufbewahrung zurückführen, die, wie erwähnt, in Ampullen aus dunklem Glas unter Ersatz der Luft durch ein indifferentes Gas stattfindet. Die besseren Resultate im zweiten Teil dieser Mitteilung gegenüber den Ergebnissen des ersten Teils aber werden wohl mit Sicherheit einmal der ausschließlichen Verwendung geprüfter Präparate des TrKs, zum anderen der verbesserten Tecknik verdankt. Wir haben also nunmehr in dem TrK ein Präparat, das bei der WaR. als dem FriK nahezu gleichwertig angesehen werden und jedenfalls für die Praxis mit bestem Erfolg verwandt werden kann. Es besitzt aber außerdem eine Reihe so bedeutender Vorzüge, daß es für den Serologen allmählich ein unentbehrlicher Bestandteil seines Laboratoriums werden dürfte.

Zusammenfassung.

1) Das Trockenkomplement läßt sich nach der Auflösung durch kurzes Zentrifugieren völlig klären ohne Verminderung seiner Wirksamkeit; aber auch das nicht zentrifugierte gelöste Trockenkomplement ist ohne Beeinträchtigung seiner Brauchbarkeit in gleicher Weise zu verwenden. — 2) Eine in dem ersten Teil der Versuche zuweilen auftretende verminderte Bindungsfähigkeit des TrK bei der Ambozeptortitration war in dem zweiten Teil der Versuche bei ausschließlicher Verwendung geprüfter Präparate des TrKs völlig geschwunden. — 3) Bei 1431 Seren und Lumbalflüssigkeiten, die im Wa-Hauptversuch geprüft wurden, war in dem ersten Teil der Versuche eine Uebereinstimmung zwischen FriK und TrK in 93,8 Proz. der Fälle vorhanden, sie betrug im Höchstfalle bei den negativen 96,7 Proz. —

In dem zweiten Teil der Versuche, der nur mit geprüftem TrK und mit verbesserter Technik der Ambozeptortitration ausgeführt wurde, war aber eine Uebereinstimmung der Resultate zwischen FriK und TrK in 97,2 Proz. bei allen Seren vorhanden, in 97,8 Proz. bei den negativen und in 97,5 Proz. bei den positiven Fällen. — 4) Gegenüber den früheren, noch unzureichenden Ergebnissen mit dem TrK ergaben die vorliegenden Versuche, daß das TrK bei der WaR. einen nahezu gleichwertigen Ersatz für das FriK darstellt. Die besseren Resultate sind zurückzuführen: 1. auf die verbesserte Art der Aufbewahrung des TrKs in dunkler Ampulle unter einem indifferenten Gas, 2. auf die ausschließliche Verwendung von geprüften Präparaten, 3. auf die verbesserte Technik der Ambozeptortitration.

Literatur.

Busacchi u. Ceredi, Giorn. d. Clin. Med. Ann. 6. 1925. Fasc. 9. — Gäde, W., u. Straub, W., Biochem. Zeitschr. Bd. 165. 1925. S. 247. — Kuznitzky, E., Klin. Wochenschr. 1925. S. 923. — Moses, A., Brazil. Med. Revist. Sem. d. Med. e Chirurg. Ann. 38. No. 19. Vol. 2. 1924. — Nai, D., Estr. d. Bioch. e Therap. sperim. Ann. 11. 1924. Fasc. 8. — Poehlmann, A., Münch. med. Wochenschr. 1925. S. 222. — Pokorná, M., Čes. Derm. 1925. p. 230. — Pollak, R., Vojenske Zdravodnike Listy. 1925. p. 140/142. — Romanow, B. J., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 45. S. 74. — Schilf, F., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. S. 438. — Schmitz, K. E. F., Ibid. Bd. 94. 1925. S. 177. — Stern, Marg., Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 397. — Dies. u. Frank, Toni, Ibid. 1925. S. 1858.

Ueber einen leistungsfähigen Apparat zur Anaërobenzüchtung.

[Aus der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling bei Wien (Direktor: Dr. F. Gerlach).]

Von Tierarzt Dr. **Rudolf Baumann**,
wissenschaftlichem Hilfsarbeiter.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Für die heute zur Reinzüchtung und Differenzierung der Anaërobier allgemein erfolgreich angewendete Zeißlersche Methode der Kultur auf der Traubenzuckerblutagarplatte werden verschiedentlich Exsikkatoren in Gebrauch genommen, die in ihrer Konstruktion von dem von Zeißler benützten Maassenschen Apparate m. o. w. abweichen (Kirchner, Hilgers, Brekenfeld, Lode, Kovács, Groetschel u. a.). Der Grund hierfür mag darin liegen, daß die Beschaffung eines solchen Apparates nicht überall leicht möglich ist, daß dessen Ausführung von verschiedenen Firmen nicht gleichmäßig sorgfältig erfolgt und daß vielfach eine handlichere Form gewünscht wird, die sich auch leichter im Brutschranke unterbringen läßt. Es ist daher verständlich, daß infolge des vielseitigen Bestrebens, Auskunftsmittel zu finden, die unter den aufgezählten Bedingungen möglichst ideale anaërobe Verhältnisse gewährleisten, in letzter Zeit die

Angaben über diesbezügliche Versuche mit Anaërobenapparaten der mannigfaltigsten Konstruktion sich mehren.

Auch an der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling wird zur Züchtung der Anaërober seit längerem ein Apparat verwendet, welcher ein so erfolgreiches und sicheres Arbeiten gestattet, daß eine kurze Mitteilung darüber berechtigt erscheint.

Der Apparat besteht aus einer mit knopfförmiger Handhabe versehenen Glasglocke von 27 cm Höhe und 14 cm lichter Weite, welche mit einem eben geschliffenen, mattierten, breiten Randwulst auf einer geschliffenen, mattierten Glasplatte ruht und unmittelbar oberhalb des Randwulstes einen Tubus trägt, in welchen ein rechtwinkelig nach aufwärts gebogenes, mit einem Hahn verschlossenes Glasrohr eingesetzt wird. Die Innneineinrichtung des Apparates besteht aus einem Glaszylinder, der etwa um 1 cm im Durchmesser kleiner ist als die Glocke und der lediglich den Zweck hat, die Platten, welche in einem

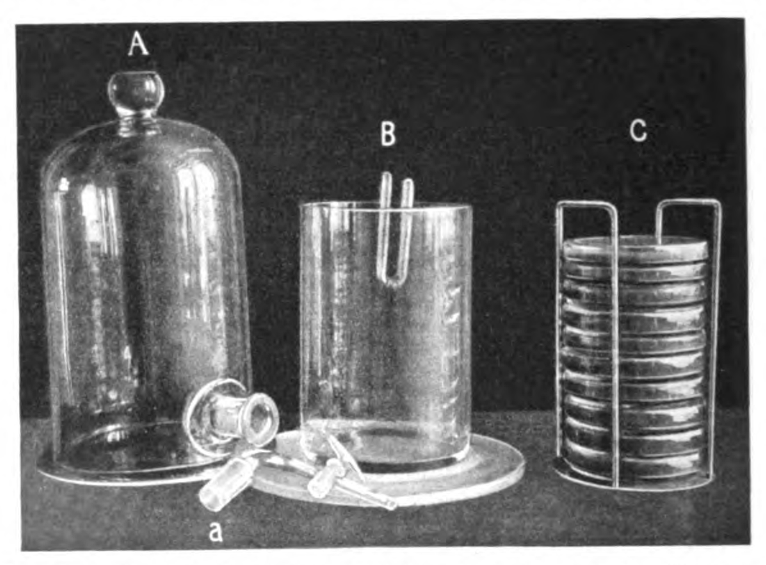


Fig. 1. Bestandteile des Apparates: A Glasglocke mit seitlichem Tubus und dem einzusetzenden Glasrohr *a*. B Glaszylinder mit aufgesetztem Manometer auf die mattierte Glasplatte aufgestellt. C das mit Petri-Schalen beschickte Messinggestell.

einfachen Messinggestell übereinander geschichtet werden, gegen die Kalilauge zu schützen. Der Rauminhalt ist ungefähr halb so groß wie der des gebräuchlichen Maassenschen Apparates und reicht bequem für 12 Petrischalen aus.

Nachdem die Platten samt dem Messinggestell in den Glaszylinder gestellt worden sind, auf dessen Boden etwas Wasser zur Erzielung eines entsprechenden Feuchtigkeitsgrades im Apparat gebracht werden kann, erfolgt die Beschickung folgendermaßen: In die Mitte der Glasplatte werden 2 g Pyrogallol in Form eines Häufchens gebracht, auf das der Zylinder gestellt wird. Dann wird der Rand der Glocke, welcher mit der von Zeißler angegebenen Dichtungsmasse, bestehend aus Rindstalg, Vaseline und Toluol zu gleichen Teilen bestrichen worden ist, durch drehende Bewegungen fest aufgedrückt, bis alle Luftbläschen zwischen den sich berührenden Glasflächen verdrängt sind. Außen

herum wird noch ein dünner Ring mit dieser Dichtungsmasse angelegt. (Es ist darauf zu sehen, daß durch jedesmaliges Erwärmen eine gleichmäßig fließende Masse hergestellt wird, die in dünner Schicht mittels Pinsels aufgetragen wird.) Ein größerer Überschuß ist zu vermeiden, weil in den Innenraum der Glocke vorgepreßtes Fett in der Lauge aufsteigt. Die Kalilaugelösung wird folgendermaßen eingeleitet: Nach dem Evakuieren durch das seitliche Glasrohr auf 20 mm Quecksilberdruck werden durch dasselbe Rohr aus einem Paltaufschen Infusionsapparat, aus dessen Schlauch durch vorheriges Ausstreifen die Luft vollkommen entfernt wurde, 150 ccm 20proz. Kalilauge zufließen gelassen, deren Niveau in der Glocke bei der verwendeten Menge über den seitlichen Tubus zu stehen kommt. Dadurch werden etwaige Undichtigkeiten des Verschlusses am Apparate durch Aufsteigen größerer Luftblasen offenkundig. Luftperlen, die in geringer Menge mit abgestandener Kalilauge in den Apparat gelangen, sind belanglos und müssen

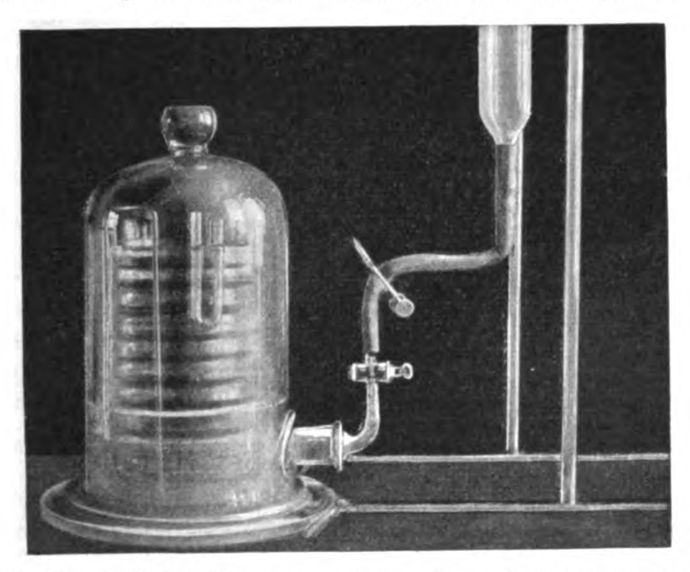


Fig. 2. Der für die Bebrütung zusammengestellte, evakuierte Apparat. Aus einem Infusionsapparat strömt durch den verbindenden Gummischlauch die Kalilaugelösung in den Apparat ein.

nicht erst durch vorheriges Auskochen der Lauge entfernt werden, um so mehr als erfahrungsgemäß ein im Apparat befindliches Manometer seinen Stand nicht merklich ändert. Die Lösung des Pyrogallols, welche alsbald eintritt, ist zunächst längere Zeit hindurch völlig wasserhell und nimmt erst ganz allmählich im Brutschrank durch Absorption des Restsauerstoffes oberflächlich eine bräunliche Farbe an. In den Brutschrank oder in die Brutkammer wird der Apparat, nachdem auch noch das seitliche Ansatzrohr mit einer Gummikappe gegen ein etwaiges Eintrocknen der darin befindlichen Lauge geschützt ist, auf einer Tasse stehend gebracht, auf welcher später auch das Oeffnen nach allmählichem Einströmenlassen der Luft vorgenommen wird. Man stellt dabei die Tasse gegen eine Tischleiste oder eine Wand, erfaßt den Knopf mit der einen Hand und drückt die Glocke mit der anderen Hand gegen die Widerhalt bietende Leiste oder Wand, worauf die

Glocke von der Glasplatte abgleitet, wobei sich die Pyrogallollösung in die Tasse ergießt.

Als Vorteil des Apparates[1]) ist anzuführen, daß die Vereinigung von Pyrogallol und Kalilauge nach dem Evakuieren bequem vorgenommen werden kann und daß Undichtigkeiten, welche nur sehr selten vorkommen, an dem Aufsteigen größerer Luftblasen zu erkennen sind, so daß diesem Uebelstande durch Aufstreichen der Zeißlerschen Dichtungsmasse an der undichten Stelle jederzeit abgeholfen werden kann.

Literatur.

Abel, Bemerkungenn zu Hilgers Aufsatz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. S. 558.) — Brekenfeld, Einmachegläser als Exsikkatoren zur Anaërobenzüchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. S. 129.) — Groetschel, Ein neuer Apparat zur Anaërobenzüchtung. (Ibid. Bd. 95. S. 451.) — Hilgers, W. E., Die Verwendung der Haushaltungsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung. (Ibid. Bd. 91. S. 557.) — Kirchner, O., Zur Technik der Anaërobenzüchtung. (Ibid. Bd. 91. S. 340.) — Kovács, N., Untersuchungen über die Technik der Anaërobenzüchtung. (Ibid. Bd. 95. S. 344.) — Lode, A., Zur Züchtung der Anaëroben. (Ibid. Bd. 96. S. 91.) — Zeißler, J., Kraus-Uhlenhuth. Handb. d. mikrobiol. Technik. Bd. 2. 1923.

1) Die Glaswarenfabrik S. Reich & Co., Wien IV, Margarethenstraße 17, hat die Anfertigung und den Vertrieb der Apparate übernommen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5493

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 99. Heft 4/5.

Ausgegeben am 5. August 1926.

Nachdruck verboten.

Zur Theorie und Praxis der Farbstoffwirkungen auf Bakterien.

[Aus dem Hygienischen Institut der Westf. Wilhelms Universität, Münster (Dir.: Prof. Dr. K. W. Jötten).]

Von Dr. **Friedrich Sartorius,** Assistent am Institut.

Mit 4 Tabellen im Text.

Trotz der praktischen, empirischen Anwendung, die eine ganze Reihe von organischen Farbstoffen in der diagnostischen und experimentellen Bakteriologie, darunter auch in der Chemotherapie erlangt haben, ist es bisher noch nicht möglich, die gegenseitigen Beziehungen zwischen Farbstoffen und Bakterien systematisch-biologisch zu überblicken. Die Gründe hierfür liegen zum Teil offen, wenn man sich kurz in den Ergebnissen bisheriger Untersuchungen umsieht und wahrnimmt, daß einerseits die gefundenen Regeln immer noch unvollkommene Handhaben sind, andererseits aber viele Einzelfragen der Beziehungen technische Schwierigkeiten bieten. Die inneren Bedingungen, wodurch für die einzelnen Bakterienarten z. B. für die Hemmung oder Abtötung die schon von Paul Ehrlich gekennzeichnete halb spezifische Wirkung der Farbstoffe zustande kommt, sind erst in ihren Ansätzen erkannt, aber noch keineswegs quantitativ und qualitativ differenziert.

Die Untersucher haben in theoretischer Trennung einerseits für die Frage der Permeabilität, andererseits für die Fixation und Wirkung einheitliche Gesichtspunkte angestrebt. Die stärkere Affinität resp. Permeabilität basischer Farbstoffe schien im Zusammenhang mit der Lipoidlöslichkeit dieser Farbstoffe Klarheit zu gewinnen. Aber diese blieb nicht das einzige Kriterium für die Permeabilität; weitere Untersuchungen konnten zeigen, daß auch ein bestimmter kolloidaler Zustand von Farbstoffen sowie eine Aenderung der p_H-Konzentration der Medien den Durchgang von Farbstoffen durch Zellmembranen gestatten resp. ändern konnten (Ruhland, Höber, Bethe u. a.). Ganz abgesehen ist hierbei aber noch von der Unklarheit, welche über das Vorhandensein eines Ektoplasmas der Bakterienarten überhaupt oder über dessen besonderen Bau auch heute noch besteht.

Die Fixation der Farbstoffe erweist sich noch ungeklärter als die Durchgangsverhältnisse. Wohl weiß man, daß in vielen Fällen besonders bei den sauren Farbstoffen die Bindung im Innern einen lockeren reversiblen Charakter hat, daß ferner bei den basischen Farbstoffen mit einer besonderen Affinität zu den Eiweißstoffen zu rechnen ist, die viel leichter zu einer festeren, intensiver wirkenden Bindung führt. Wertvoll sind auch die Hinweise einmal auf Vorstadien der Wirkung von Farbstoffen, wobei es auch in den Bakterien zu einer Art Ent-

mischung kommt (Vay, Löew), weiter auf die verschiedenartige Verschiebung des isoelektrischen Punktes verschiedener Eiweißarten an sich durch Farbstoffe (Umetzu) und schließlich auf die verschiedene Lage einer isoelektrischen Zone in den Bakterien. Diese scheint durch ihre verschiedene Zusammensetzung als Lipoproteid hervorgerufen zu sein und vor allem für die Aufklärung der Gramfärbbarkeit in Frage zu kommen (Stearn).

Gerade hinsichtlich der Fixation entbehrt jedoch das Meiste noch einer festeren Regel, vielleicht in der Hauptsache wegen der Schwierigkeit, endoplasmatische Bakteriensubstanzen isoliert ohne Denaturation mit Farbstoffen durchzuprüfen. Aber auch wenn dies sich durchführen ließe, bleibt freilich noch vieles unberücksichtigt; eine Veränderung des Stoffwechsels z. B. machen vereinzelte Versuche mit Farbstoffgewöhnung der Bakterien offenbar (Seiffert), und nicht zuletzt hat man im Stoffwechsel zu berücksichtigen, daß die einzelnen Bakterienarten ja eine sehr verschiedene Reduktionsfähigkeit für die verschiedenen Farbstoffe aufweisen (Rotberger). Die letztere Tatsache ist zwar vom Standpunkte bakterieller Fähigkeiten an vereinzelten Farbstoffen, z. B. Metylenblau, qualitativ und quantitativ herausgearbeitet (Wichern), nicht aber im Sinne einer Systematik der Farbstoffwirkungen (Aufhebung hemmender Wirkungen).

Es ist nun offensichtlich, daß man bei dem Problem der Vitalfärbung mehr auf die Differenzierung ekto- und endoplasmatischer Vorgänge unter Farbstoffwirkung Bedacht nehmen muß als bei der Frage nach Hemmung und Abtötung der Bakterien durch Farbstoffe. Wenn wir auch die Verwicklungen der äußeren und inneren Vorgänge im Auge behalten müssen, um sie eventuell zur näheren Prüfung heranzuziehen, so interessiert uns doch in der Hauptsache der Erfolg, der sich praktisch ergibt. Man kann daher ungezwungen einer Durchprüfung die Systematik der Farbstoffkonstitution mit ihren verschiedenen Substitutionsverhältnissen zugrunde legen. Es werden sich dabei Beziehungen herausbilden, die auf den Wert der Veränderung der Konstitutionen gewisse Rückschlüsse gestatten und zugleich dann in weiteren Versuchen erlauben, auch auf Veränderung der Verhältnisse, z. B. durch eine andere pH-Konzentration der Medien, oder auf die Reduktionsverhältnisse Bedacht zu nehmen.

Verschiedene Grundlagen haben sich für den Einfluß der Konstitution in früheren Untersuchungen schon geboten. Zunächst ist zu erwähnen, daß sich hinsichtlich der beiden Absichten — Hemmung der Bakterien im Wachstum oder Abtötung — ganz allgemein gesprochen, ungleiche Verhältnisse insofern ergeben, als Bakterien, die zwar leicht gehemmt sind, vielfach ungleich schwerer abzutöten sind (Kriegler). Die Systematik der Hemmung der Bakterien nach der Konstitution gilt also nur für diese Absicht und vielleicht sogar nur für das gewählte Nährmedium, da dieses die Durchgangs- und Resorptionsverhältnisse als Gel oder Sol nicht unbedeutend verändern kann. Dies ändert aber nichts daran, daß z. B. die basischen Farbstoffe im allgemeinen wirksamer sind — im Zusammenhang meist mit der Färbekraft — als die sauren, daß unter den sauren wieder etwa die Nitrofarbstoffe wirksamer sind, als die Sulfosäuren. Halogene, Alkyl, Aryl oder Nitrogruppen hat man wie sonst pharmakologisch als Substituenten wirkungssteigernd gefunden, wobei jedoch die Auswertung, wie die

späteren Versuche erweisen, noch manche interessante Abstufung aufzuweisen vermag.

Es schien nun angebracht, Gruppen von Farbstoffen mit ähnlicher Kernkonstitution, aber verschiedenen Substituenten zunächst auf ihre Hemmungswirkungen an bestimmten Gruppen sich näher stehender Testbakterien zu prüfen, um Rückschlüsse auf den Wert der Konstitutionsveränderungen für die vorliegenden Verhältnisse zu erlangen. Es wurde so vorgegangen, daß von wässerigen Lösungen der Farbstoffe mit bestimmtem Prozentgehalt fallende Mengen (10, 8, 6, 2 ccm) mit 100 ccm verflüssigtem Nähragar gemischt und davon Platten hergestellt wurden. Auf diese wurden die Teststämme ausgestrichen. Der Prozentgehalt der Farbstofflösungen hielt sich, wie aus den folgenden Tabellen ersichtlich ist, in Grenzen von 0,1—2 Proz. Die pH-Konzentration des Agars wurde in allen Versuchsreihen auf pH 7,5 gehalten; eine Aenderung dieser pH durch den Charakter der ja sehr geringen Farbstoffmengen sei vorläufig dahingestellt, sie kann meines Erachtens nur klein und nur da von Einfluß sein, wo die untersuchten Bakterien einerseits ein sehr eng begrenztes Optimum aufweisen, andererseits die Wirkung des Farbstoffs sich sprungweise bei einer gewissen pH ändert.

Es wurde nun auf Hemmungwirkungen untersucht an Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe, der Ruhrgruppe und an Proteus X 19 allein und in Mischkultur mit Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe. Die Farbstoffe, die zur Verwendung kamen, stammen in der Hauptsache von Grübler, zum Teil von der Firma F. Bayer & Co. Es sind unter ihnen neben basischen und sauren Triphenylmethanfarbstoffen Vertreter der Thiazine, Alizarine, Azine, Phtaleine und schließlich der Nitro- und Azofarbstoffe zur Verwendung gelangt. Außerdem noch probeweise einige andere, wie z. B. Bindschädlers Grün, ein Chinoniminfarbstoff, Resorzinschwarz, Naphtolgelb S. usw. Die Befürchtung, daß etwaige Stellmittel oder sonstige Beimengungen in den Farbstoffen die exakte Beobachtung stören könnten, darf man bei Plattenversuchen im allgemeinen wegen der hohen Verdünnung und der Resorptionsverhältnisse nicht für so wesentlich halten. Es können allerdings, wie Jakobsen gezeigt hat, schwefelhaltige Salze als Beimengung noch in recht hohen Verdünnungen Wachstumshemmungen beseitigen. Mehr zu bedenken ist vielmehr die Tatsache, daß man manche Farbstoffe, wie z. B. das Methylviolett, nur als Mischung höherer und niederer Methylierungsprodukte vor sich hat.

Die Ergebnisse bei der Prüfung auf Hemmung wurden nun in der Weise übersichtlich zu gestalten versucht, daß jeder Bakterienart und Konzentration ein Rechteck zuerteilt und dieses je nach dem Grade der Hemmung ganz, teilweise oder gar nicht schwarz gehalten wurde. Neben diesem Relief der Wirkung wurde zur Orientierung die Konstitution der Farbstoffe nach den Tabellen von Schulz und Julius angezeigt. Um annährend gleich viele Bakterien den hemmenden Wirkungen auszusetzen, wurde so verfahren, daß zunächst gewöhnliche Agarplatten voll beimpft und dann nach 24stünd. Kultur je 2 Doppelösen des Kulturrasens in 5 ccm Bouillon aufgeschwemmt wurden. Diese Bouillonaufschwemmung wurde dann nach 3 Std. Kultivierung zur Impfung auf die Hemmungsplatten verwendet. Es ergab sich nun folgendes Bild:

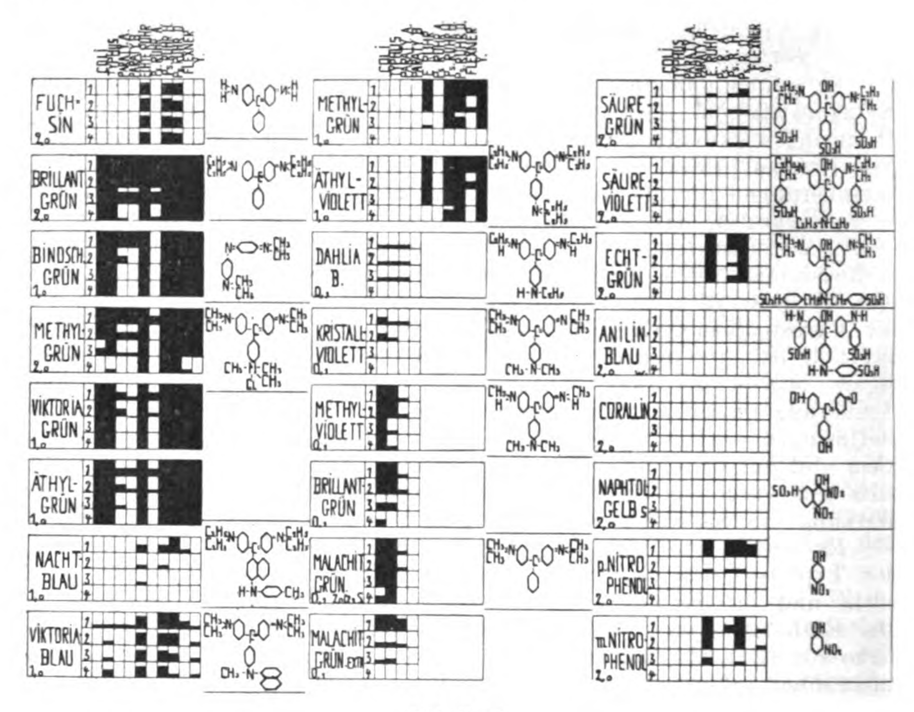


Tabelle I.

Erklärungen: Die Farbstoffkonzentrationen stehen im gleichen Raum mit den Farbstoffnamen, meist in der Ecke darunter.

Die Zahlen 1, 2, 3 und 4 bedeuten die Farbstoffkonzentrationen in den Agarplatten, also 1 = 10 ccm Zusatz zu 100 Agar, 2 = 8 ccm Zusatz usw. Die Rechtecke in wagrechter Richtung entsprechen also Nährböden mit gleicher Farbstoffkonzentration.

Die Beimpfung mit den verschiedenen Bakterienarten ist dann in senkrechter Richtung die gleiche.

Zunächst ergibt sich die Bestätigung einer gewissen Empfindlichkeitsskala der Bakterien, die für alle wirksamen Farbstoffe auf den ersten Blick ziemlich konstante Verhältnisse erkennen läßt. Man findet für die Typhus-Coli-Gruppe die Reihenfolge Paratyphus B, Paratyphus A, Typhus, Coli. Einige Unregelmäßigkeiten dieser Reihenfolge erweisen sich schon an den Teststämmen in der Thiazingruppe (Vertreter: Methylenblau, Methylengrün, Thionin). Es soll später noch hierauf eingegangen werden.

Bei der Ruhrgruppe, die im allgemeinen stärker gehemmt erscheint als die Coli-Gruppe, fällt die hohe Resistenz der Pseudoruhr-A auf. Die echte Ruhr ist bei diesen Teststämmen am empfindlichsten, Pseudoruhr-H und -D erscheinen im allgemeinen empfindlicher als Flexner und Y. Ich habe mich allerdings an einer Reihe anderer Flexnerstämme (8)[1]) bei Verwendung der gleichen Farbstoffe überzeugt, daß

1) Ein weiterer Beweis dafür, daß wir es bei den sogenannten Flexner-Ruhrbazillen nicht mit einem einheitlichen Ruhrtyp zu tun haben, sondern vielmehr mit Angehörigen der verschiedenen Pseudoruhrbazillen entsprechend der Ansicht von Kruse. Man wird sich daher besser bei der Diagnostik der Ruhrbazillen an die Krusesche Einteilung halten.

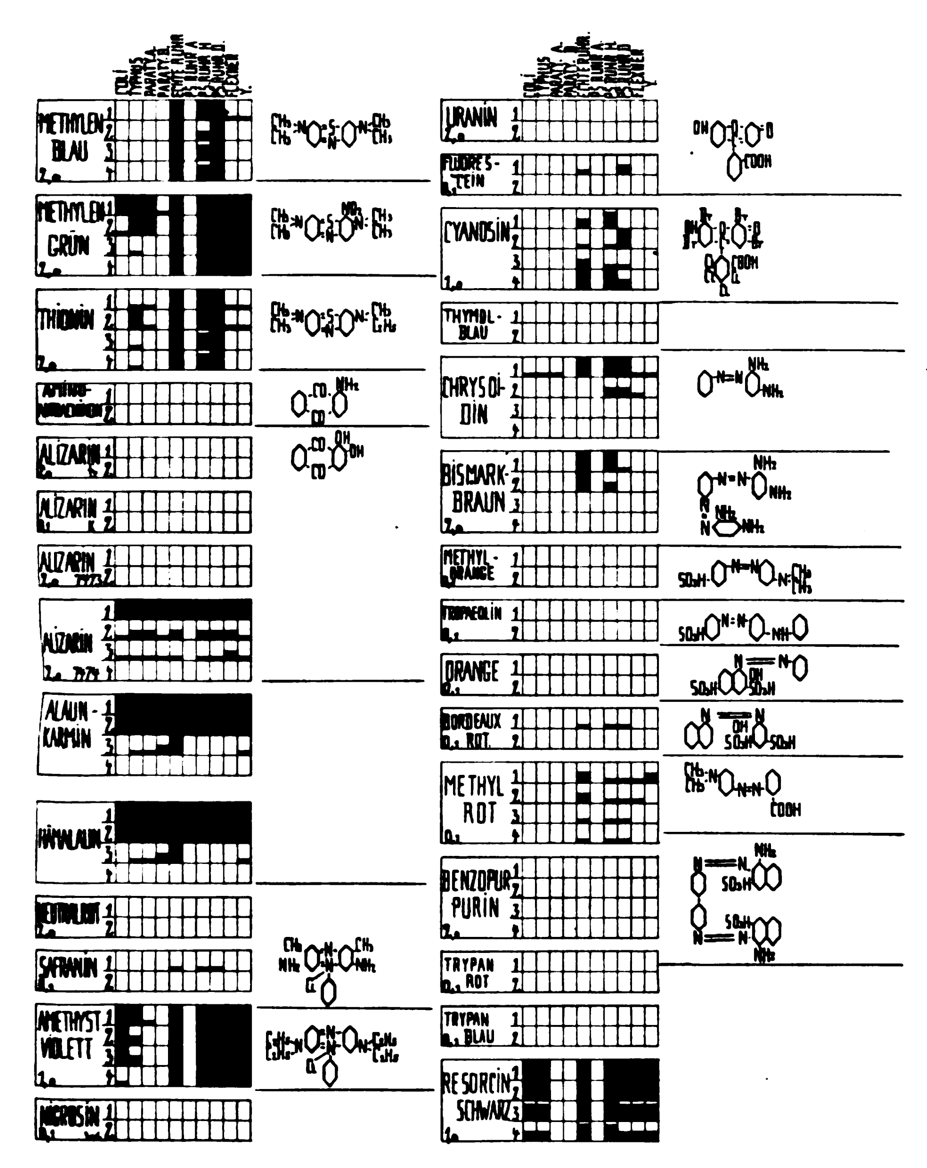


Tabelle II.

Anmerkung zu Tabelle II. Die Konzentration bei Thymolblau und Chrysoidin beträgt 0,1 Proz.

ihre Empfindlichkeit mit einigen Ausnahmen (2) doch den Pseudoruhrstämmen-H und -D etwa gleichkommt.

Die praktischen Folgerungen, die sich aus groberen Differenzen der Empfindlichkeit der Bakterienarten gegenüber einzelnen Farbstoffen ziehen lassen, zeigen die empirische Verwendung von Malachitgrünplatten in der Typhus-Paratyphusdiagnostik sowie die feinere Ausarbeitung z. B. einer Brillantgrünmethode nach Killian. Man hat

damit nur einige der stärkst wirksamen Farbstoffe ausgewählt, obwohl, wie deutlich ersichtlich ist, die Skala der Bakterienhemmung auch bei schwächer wirksamen stets etwa gleichen Charakter zu haben scheint (Amethystviolett, Thionin, Chrysoidin u. a.). Man dürfte danach vermuten, daß die Skala der Empfindlichkeit mehr von konstanten inneren Bedingungen der Bakterien abhängig erscheint als von einer bestimmten Kernkonstitution der Farbstoffe. Zu diesen allgemeineren Bedingungen ergeben sich aber nun bei näherer Beobachtung in der Art und Gruppierung der Substituenten (Alkyl, Nitro, -Almino-, -Sulfogruppen) Faktoren, die neben der Beeinflussung des basischen resp. sauren Reaktionscharakters qualitative und quantitative Wirkungsverschiebungen hervorrufen. Diese Tatsache ist natürlich korrelativ zu verstehen, indem ja eingangs schon die Einflüsse z. B. des kolloidalen Verhaltens oder der Lipoidlöslichkeit erwähnt wurden.

Wenn Leuchs seinerzeit unter Vergleich der ähnlichen Wirkungen des Koffeins und Malachitgrüns noch annahm, daß die Anwesenheit methylsubstituierter Aminogruppen für die Wirkung in der Typhus-Coli-Gruppe in Anspruch genommen werden könne, so zeigt schon ein Blick auf die erste Tabelle am Säuregrün, Säureviolett, Echtgrün, daß bei gleichzeitiger Sulfonierung des ganzen Komplexes mit 4—6 methylsubstituierten Aminogruppen jede Wirkung in der Typhus-Coli-Gruppe schwindet. Diese Unwirksamkeit sulfonierter Farbstoffe, die Eisenberg an seinem Material bei 32 von 41 Sulfosäurefarbstoffen feststellte, bezieht er zum Teil auf die von Freundlich erkannte Tatsache, daß die Einführung einer Sulfogruppe die Absorbierbarkeit herabsetzt. Es ergibt sich jedoch nach den vorliegenden Tabellen nächst einer Bestätigung der Unwirksamkeit von Farbstoffen mit Sulfogruppen (s. Tab. II: Azofarbstoffe) die Wahrnehmung, daß der Ort und die Art, wie die Sulfonierung erfolgt, nicht ganz unwesentlich ist. Ich möchte hierzu auf die verschiedenen Ergebnisse bei Säuregrün, Säureviolett, Echtgrün hinweisen, wo ja bei sonst gleicher Konstitution die Sulfonierung an verschiedener Stelle einsetzt.

Die schon bekannte Wirkungssteigerung von Farbstoffen durch Einführung von Halogenen, Nitrogruppen findet auf Tab. II einen prägnanten Ausdruck in der Gegenüberstellung der Wirkungen von Methylengrün und Methylenblau, ferner Uranin und Cyamosin. Auch bei der Nitrogruppe scheint der Einführungsort von Bedeutung (s. die verschiedene Wirkung als p. und o.Nitrophenol, Tab. I). Die ungiftige Wirkung von Nachtblau, Viktoriablau gegenüber den sonstigen basischen Triphenylmethanfarbstoffen darf wahrscheinlich mit dem Vorhandensein eines Naphthalinkerns konstitutionell in Zusammenhang gebracht werden. Bekannt ist ja die fehlende Geldifusibilität der beiden genannten Farbstoffe. Es muß aber hier für die verschiedenen Farbstoffgruppen und Substitutionsmöglichkeiten noch ein breiteres Material gesammelt werden, das derartige Hinweise und Beziehungen bekräftigt und vor allem auch die Variationsbreite der Bakterienarten berücksichtigt. Dies gilt auch für folgende Beobachtung. Wir wissen, daß Methylviolett-B ein Gemenge niederer Methylierungen 3—5) des Rosanilins darstellt, daß Kristallviolett 6, Methylgrün 7 Methylgruppen enthält. Die Wirkung steigert sich aber nicht proportional mit den Methylgruppen, wie man etwa erwarten sollte, sondern schwächt sich mit höherer Methylierung ab. Dasselbe gilt von Dahlia-B, einem Gemenge niederer Aethylierungen, und Aethylviolett mit 6 Aethylgruppen. Es

soll jedoch nochmals darauf hingewiesen werden, daß sich diese Beobachtungen bei anderen pH-Verhältnissen ändern können, sie haben hier einen prinzipiellen Wert.

Ich habe nun teils zur Sicherstellung dieser letzten Beobachtung, teils auch, um besonders feinere Verschiebungen in der Typhus-Coli-Gruppe besser zu erkennen, meine Untersuchung mit den wirksamen Farbstoffen auf 72 Stämme der Typhus-Coli-Gruppe ausgedehnt. Es ergaben sich dabei interessante qualitative Verschiebungen, die zeigen, daß die Substitution an verschiedenem Gerüst außer der Wirkungssteigerung qualitative Bedeutung besitzt. Die Ergebnisse sind in gleicher Anordnung auf Tab. III dargestellt. Die 2 untereinander

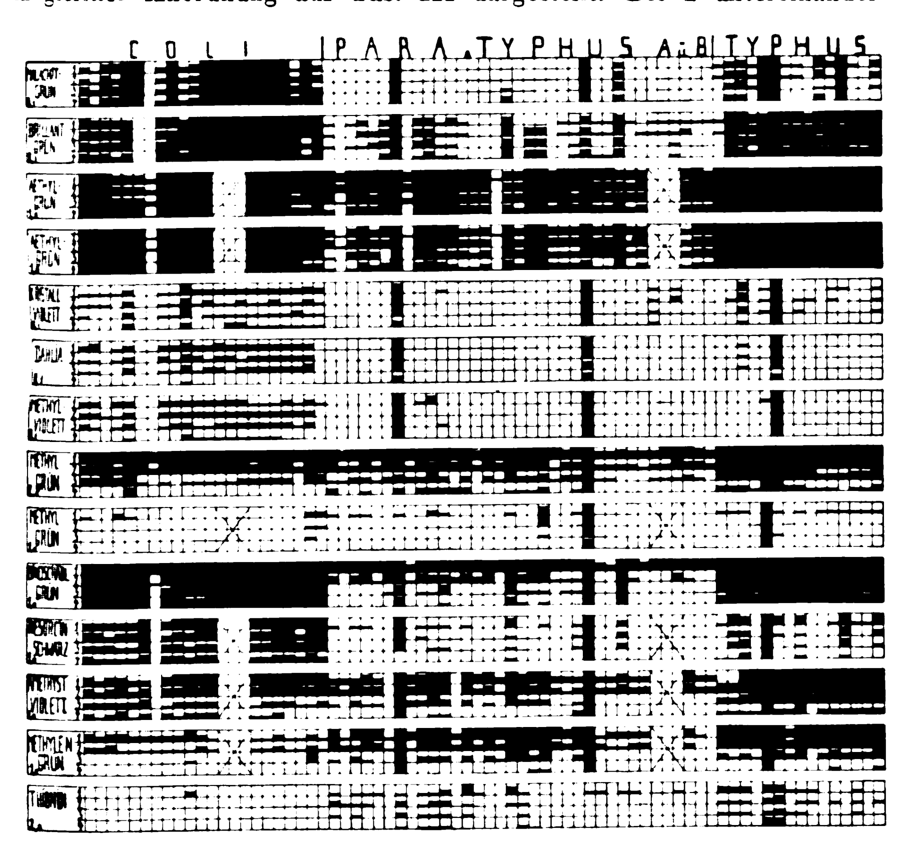


Tabelle III. Verwendet sind 22 Coli-Stämme, 35 Paratyphusstämme A und B, 15 Typhusstämme.

stehenden Ergebnisse mit Aethylgrün beziehen sich auf verschiedene Beobachtungsdauer, einmal als Ablesung nach 24 Std., darunter nach 3 Tagen. Es ist ersichtlich, daß dann die resistenteren Paratyphen besser hervortreten. Als Grundsatz gilt demgemäß eine Beobachtungsdauer von 3 Tagen.

Der Eindruck der ganzen Tabelle ist die Erkenntnis, daß man mit recht großen Individualitätsschwankungen der Stämme rechnen muß, und daß einzelne Stämme sowohl bei Coli- wie bei Paratyphus- und

Typhusbazillen gänzlich nach der einen oder anderen Seite aus dem Rahmen fallen. Das zeigt, daß Ergebnisse an Teststämmen vorsichtig aufzunehmen sind. Die von mir verwendeten Teststämme zeigen indessen ein normales Verhalten. Etwas Gutes kann dieses Herausfallen von Stämmen indes insofern haben, als dadurch besondere Eigenschaften bei diesen Stämmen vermutet werden dürfen.

Betreffs der vorhin erwähnten verschiedenen Methylierung sieht man in der Wirkungsstärke zwischen Methylviolett und Kristallviolett zwar keine wesentliche Differenz, dagegen zeigt Methylgrün gegenüber diesen beiden auch in 10fach stärkerer Konzentration deutlichen Wirkungsabfall. Was dann weiter bei diesen dreien auffält, ist die allmähliche Verschiebung des Wirkungsschwerpunktes auf die Gruppen der Typhus- und Paratyphusstämme. Beim Methylviolett bleiben Typhus- und Paratyphusbazillen außer einigen herausfallenden Stämmen noch völlig frei von Hemmungserscheinungen, beim Kristallviolett zeigen Typhusstämme deutlich beginnende Hemmungen, beim Methylgrün 2proz. liegen die Haupthemmungen bei den Typhusstämmen. Paratyphus ist ebenfalls mitbeteiligt, während die *Coli*-Stämme gegenüber dem Methylviolett entlastet sind.

Der übereinstimmende Wirkungstyp von Malachitgrün und Brillantgrün kommt gut zur Geltung, nur daß Brillantgrün die Ty.-Stämme noch etwas kräftiger und geschlossener hemmt als Malachitgrün. Der qualitative Wirkungscharakter der hier vereinzelt stehenden Farbstoff, Bindschädlers Grün, Resorzinschwarz, Amethystviolett, schließt sich im wesentlichen dem Typus des Malachitgrüns resp. Brillantgrüns an. Dagegen ist interessant und auffällig der entgegengesetzte Wirkungscharakter bei den Thiazinen Methylengrün und Thionin. Hier liegt, besonders deutlich beim Methylgrün, das ganze Schwergewicht der Hemmungswirkung auf Ty.- und etwas schwächer auch auf Paratyphusbazillen, die *Coli*-Stämme sind elektiv kaum gehemmt. Diese bisher nicht beachtete Tatsache dürfte auch für die diagnostische Praxis einige Bedeutung gewinnen.

Gerade für die Praxis gelten auch einige Ergebnisse über die Frage, welche der vorliegenden Farbstoffe sich am besten dazu eignen, *Proteus* an sich oder wenigstens seine Schleierbildung elektiv zu hemmen. *Proteus* ist ja bei diagnostischen Züchtungen in manchen Fällen eine unangehme Begleiterscheinung. Bei der Prüfung wurde sowohl *Proteus* allein als auch in Mischkultur mit *Coli*-, Ty.- und Paraty.-Bazillen auf die Farbstoffplatten ausgestrichen. Die Mischaufschwemmungen wurden in ähnlicher Weise durch Verreibung je einer Oese *Proteus* und einer Oese Ty.-, *Coli*- oder Paraty.-Kultur in 5 ccm Bouillon vorbereitet und von dieser Mischaufschwemmung nach 3 Std. ausgestrichen.

Es ist ersichtlich, daß neben dem Kristallviolett auch die andern violett als brauchbarer Hemmungszusatz angesehen wurde. Die Ergebnisse mit den vorliegenden Farbstoffen zeigt die Tabelle IV, auf der für *Proteus* allein und in Mischkultur für Hemmung und Schleierbildung gesondert wieder Rechtecke vorbereitet sind, in welchen der Grad der Hemmung resp. Schleierbildung durch Schwarzhalten angezeigt ist.

Es ist ersichtlich, daß neben dem Kristallviolett auch die andern basischen Triphenylmethanfarbstoffe, wie Methylgrün, Malachitgrün,

Tabelle IV.

Brillantgrün, Methylviolett, Dahlia, fernerhin auch Amethystviolett, Resorzinschwarz, Methylrot in höherer Konzentration nicht ganz ungeeignet sind. Alle ganz unwirksamen Farbstoffe sind nur in einer Konzentration angegeben. Jedoch ist bei den eben erwähnten Farbstoffen teils die Hemmung der Schleierbildung erst dann vollständig, wenn schon eine leichte Hemmung der Mischbakterien der Typhus-Coli-Gruppe erfolgt, z. B. beim Methylgrün, Amethystviolett, Resorzinschwarz, teils hält die Hemmung der Schleierbildung kaum länger als 24 Std. an (es ist dies auf der Tabelle bei den betreffenden Farbstoffen, z. B. Brillantgrün, Methylviolett, Kristallviolett u. a. durch kleine schwarze Ecken angezeigt). Als weitaus am günstigsten hebt sich nun einmal aus den Triphenylmethanen das Aethylviolett heraus,

welches ganz elektiv das Proteus-Wachstum hemmt, ohne, wie schon früher (Tabelle I) gezeigt wurde, bei Anwendung 1proz. Lösungen die Typhus-Coli-Gruppe zu stören. Sodann ist das Cyanosin hervorzuheben. Es zeigt zwar keine Hemmung des Proteus-Wachstums, aber elektive Hemmung der Schleierbildung. Diese beiden Farbstoffe dürften also für die Praxis von Wert werden.

Bei einer kurzen Zusammenfassung der Arbeit lassen sich folgende Punkte herausheben:

Es bieten sich in den Forschungsergebnissen über die Beziehungen der Farbstoffe zu den Bakterien bisher keine praktisch systematischen Regeln, wie sie vor allem für das Studium der Hemmungs- und Abtötungswirkungen der Farbstoffe erwünscht wären. Es erscheint nicht unzweckmäßig, daß man hierfür durch Vergleich der Wirkung mit den konstitutionellen Faktoren Tatsachenmaterial gewinnt, welches praktisch systematischen Wert besitzt.

Die in diesem Sinne zunächst an Testbakterien der Typhus-, Coli- und Ruhrgruppe vorgenommene Untersuchung von Farbstoffen konstitutionell verschiedener Gruppen ergab, daß die Farbstoffe im allgemeinsam stets dieselbe Wirkungsskala schaffen, daß aber die Substituenten qualitative und quantitative Verschiebungen herbeiführen. Letzteres wird auch durch einen Massenversuch mit 72 Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe bestätigt.

Schließlich wurde mit den vorliegenden Farbstoffen untersucht, inwieweit sie zur Unterdrückung des Proteus-Wachstums resp. seiner Schleierbildung geeignet sind. Es bewähren sich dabei vor allem Aethylviolett und Cyanosin.

Literaturverzeichnis.

Bechhold, H., u. Ehrlich, P., Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. 47. 1906. — Bethe, Biochem. Zeitschr. Bd. 127. S. 30. — Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. — Freundlich, Kapillar-Chemie. — Höber u. Nast, Biochem. Zeitschr. Bd. 50. S. 418. — Ders. u. Kempner, Ibid. Bd. 11. S. 105. — Ders., Phys. Chemie d. Zelle. — Jacobsen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. — Kriegler, Ibid. Bd. 59. S. 481. — Killian, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 103. — Leuchs, Ibid. Bd. 56. S. 470. — Loew, Biochem. Zeitschr. Bd. 71. S. 315. — Rothberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 24/25. — Seiffert, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. S. 561. — Stearn, Journ. of Bact. Vol. 9. p. 463 u. 491. — Umetzu, Biochem. Zeitschr. Bd. 137. S. 250. — Wichern, Arch. f. Hyg. Bd. 72.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Bakteriophagie.

[Aus dem Institut für Seuchenlehre der Tierärztlichen Hochschule in Budapest (Dir.: Hofrat Prof. D. F. v. Hutyra).]

Von Prof. Dr. R. Manninger.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Bekanntlich hat zuerst Gildemeister die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, daß in Bakterienkulturen Bakteriophagie anscheinend spontan, d. i. ohne Vermischen der Kultur mit bakteriophaghaltigem Material, auftreten kann. Diese Beobachtung wurde dann vielfach bestätigt (Otto und Munter, Bail, Flu, Seiffert u. a.). Vorerst gelang es nur, in alten Kulturen Spontanphagie zu beobachten, später aber auch in jungen, etwa 16 Std. alten Kulturen alter Laboratoriumsstämme. Gildemeister und Herzberg neigen sogar zur Annahme, daß wahrscheinlich jede Kultur der Typhus-Coli-Ruhr-Gruppe befähigt sei, spontan Bakteriophagen zu bilden.

Diese Erscheinung, auch Spontanlyse genannt, ließ den Gedanken aufkommen, daß das bakteriophage Prinzip von selbst in vorher damit nicht infizierten Kulturen entstehen kann, und wurde daher auch als Argument gegen die parasitäre Theorie der Bakteriophagie vielfach angeführt.

Demgegenüber steht die Auffassung anderer Forscher (insbesondere von D'Herelle, Reichert sowie Preisz), wonach die Spontanphagie nicht notwendigerweise das spontane Entstehen von Bakteriophagen zur Voraussetzung hat, da es möglich ist, daß das bakteriophage Prinzip von vornherein in der Kultur vorhanden war, seine Wirkung jedoch eine Zeitlang nicht zum Vorschein kam, sondern latent blieb, um dann unter hierfür günstigen Umständen zur Erscheinung zu kommen.

Sei dem wie immer, es ist zunächst von Wichtigkeit, zu erfahren, wieweit verbreitet die sogenannte Spontanphagie in Bakterienkulturen vorkommt, da meines Erachtens der konstante Nachweis von Bakteriophagerscheinungen in den untersuchten Kulturen, insbesondere in den ersten Generationen, die Frage der Möglichkeit eines spontanen Entstehens von Phagen im negativen Sinne zu erledigen vermag.

In diesem Sinne zu deuten sind die Versuchsergebnisse, über die im folgenden berichtet werden soll. Meine diesbezüglichen Untersuchungen bezweckten eigentlich das Studium jener Kolonieveränderungen, die in bakteriophaghaltigen Agarkulturen zuerst von Gildemeister beschrieben und in jüngster Zeit besonders eingehend von Preisz studiert worden sind. Preisz hat bekanntlich mit äußerst minutiöser Technik eine ganze Reihe von Veränderungen sowohl an phaghaltigen Kolonien als auch an den sie bildenden Bazillen beschrieben und hat es dadurch ermöglicht, Erscheinungen der Bakteriophagie auch in Kulturen nachzuweisen, wo die Auflösung von Bazillen,

demnach jenes Moment, das ganz allgemein als das Kriterium der Phagie betrachtet wird, nicht zustande gekommen ist.

Ich gedachte, wie gesagt, diese feineren Veränderungen an bakteriophaghaltigen Kolonien an der Hand der Ausführungen von Preisz zu untersuchen, und wollte hierzu einen Coli-Stamm benutzen. Vor der Infektion mit phaghaltigem Stuhlfiltrat war es selbstverständlich notwendig, den Stamm — einen seit Jahren im Laboratorium fortgeführten Kälberruhrstamm — daraufhin zu untersuchen, ob er nicht etwa zufällig Spontanlysine enthält. Dies war tatsächlich der Fall. Ich suchte nun nach einem anderen, geeigneten Stamm. Es stellte sich dabei die interessante Tatsache heraus, daß ich unter 41 nach Preisz untersuchten Coli-Stämmen keinen einzigen fand, wo an dieser oder jener Kolonie nicht Veränderungen vorhanden gewesen wären, die auf eine Bakteriophagie hinwiesen. Von den 41 Stämmen waren 11 ältere, zum Teil viele Jahre alte Laboratoriumstämme, die übrigen 30 wurden jedoch unmittelbar nach ihrem Herauszüchten aus dem tierischen oder menschlichen Organismus untersucht, und zwar stammten 27 aus dem Blute von Kadavern verschiedener Tierarten, 2 aus Pferdekot, 1 Stamm endlich aus dem Urin einer zystitiskranken Frau.

Da folglich die sämtlichen untersuchten Coli-Kulturen Veränderungen aufwiesen, die nach Preisz auf das Vorhandensein von Bakteriophagen hindeuten, so mußte ich notwendigerweise zu der Auffassung kommen, daß in jeder beliebigen Coli-Kultur Stoffe vorhanden sein müssen, die Bakteriophagerscheinungen hervorzurufen vermögen, mit anderen Worten, in jeder Coli-Kultur das bakteriophage Prinzip enthalten ist.

Die Beobachtungen, die mich zu dieser Auffassung bewogen, lassen sich kurz in folgendem zusammenfassen. Vorerst sollen die Veränderungen der Kolonien, dann jene der in den veränderten Kolonien enthaltenen Bakterien beschrieben werden.

Abweichungen von der als normal gekannten Kolonieform fanden sich, gleichwohl, ob es sich um Laboratoriumstämme oder um ganz frisch gezüchtete handelte, bald nur an vereinzelten, bald an mehreren, bald auch an vielen Kolonien der Agarkulturen. Diesbezüglich war es gleichgültig, ob die Züchtung bei 20 ° oder im Thermostaten bei 38 ° erfolgte. Auch die Verwendung Drigalskischen Blauagars statt gewöhnlichem verursachte keinen Unterschied. Endlich hatte auch das Versetzen des Nähragars (pH = 7,6) mit verschiedenen Zuckerarten oder hochmolekularen Alkoholen keinen nennenswerten Einfluß auf die Zahl der veränderten Kolonien.

Die Abnormität der Kolonien ließ sich mitunter schon bei der Besichtigung mit der Lupe oder dem unbewaffneten Auge erkennen, meist mußte ich jedoch 20—100fache Vergrößerungen anwenden, um jede Einzelheit der Kolonien beobachten zu können. Bei dieser Gelegenheit leistete mir gute Dienste ein binokuläres Mikroskop.

Die häufigste Veränderung der Kolonien bestand darin, daß in sonst runden, dunkelgelben, fein granulierten Kolonien einzelne, und zwar mehr oder weniger Kreissektoren entsprechende Teile ein verändertes Aussehen erhielten. An diesen Stellen wurden die Kolonien lichter und durchsichtig, sie verloren die Körnelung und erhielten dadurch ein glasähnliches Aussehen. Die erkrankten, phagierten Teile der Kolonien vergrößerten sich allmählich auf Kosten des normal erscheinenden Kolonienteiles, so daß schließlich entweder die ganze Kolonie

glasartig durchsichtig wurde, oder nur schmale Säume oder sektorähnliche Teile von normalem Aussehen übrig blieben (Fig. 1 links oben).

Eine bedeutend seltenere, jedoch immerhin ziemlich oft zu Gesicht gekommene Unregelmäßigkeit bestand darin, daß in den anfangs normal aussehenden Kolonien in radspeichenartiger Anordnung Faltenbildung eintrat, derzufolge die Kolonien, falls die Falten nicht bis zum Mittelpunkt reichten, im großen und ganzen an Gänseblümchen erinnerten. So veränderte Kolonien bekamen alsbald ganz verschwommene Umrisse und verschwanden schließlich nach der Auflösung der in ihnen enthaltenen Bakterien ganz. Auffallend war in solchen Fällen das massenhafte Auftreten kleinster rhombischer Kritallchen in den Kolonien und deren Umgebung (Fig. 1 rechts oben).

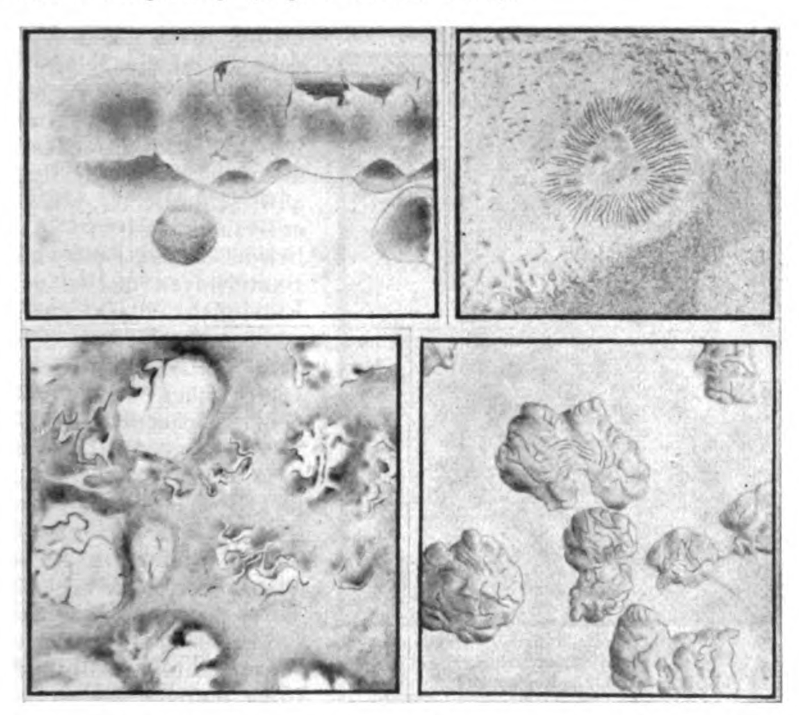


Fig. 1. Links oben: 4 Tage alte Coli-Kultur bei 20°. Die lichten Teile der Kolonien bestehen aus zugrunde gegangenen Bakterien. 5/1. Links unten: Unregelmäßige Löcher in einem 4 Tage alten Coli-Belag bei 20°. 30/1. Rechts oben: 48 Std. alte Coli-Kultur bei 38°. Gefaltete Kolonie, in ihrer Umgebung zahlreiche Kriställchen. 30/1. Rechts unten: Anthraxähnliche Kolonien des Coli-Bazillus in einer 48 Std. alten Kultur bei 38°. 15/1.

Zu den selteneren Veränderungen gehört auch das Auftreten von anthraxähnlichen Kolonien, deren Gefüge von jenem normaler Colikolonien derart abwich, daß sie gar nicht an Coli-Kulturen erinnerten. Schon bei der Besichtigung mit dem unbewaffneten Auge wird in solchen Fällen durch die eigenartige starke Lichtbrechung der Kolonien der Verdacht auf das Vorhandensein solcheartiger Kolonien gelengt, und zwar besonders, wenn die Petri-Schale in schiefer Richtung gegen die Lichtquelle gehalten wird. Unter dem Mikroskop sieht man dann, daß die Kolonien unregelmäßige Umrisse aufweisen; sie bestehen

nämlich, ähnlich wie die gestrichelten Milzbrandkolonien, aus Bakterienfäden in haarlockenähnlicher Anordnung (Fig. 1 rechts unten).

Eine weitere, ziemlich häufige Unregelmäßigkeit war die schleimige Entartung der Kolonien. Die Kolonien oder, bei allzu dichter Aussaat, der Bakterienrasen wurden auffallend dick, glänzend und hatten das Aussehen von trübem Schleim (Fig. 2).

Oft sah ich in den Kulturen auch Bakteriophagenlöcher (taches vièrges). Die Löcher waren entweder regelmäßig rund, oder boten sehr abwechslungsreiche Bilder. Regelmäßig runde Löcher beobachtete ich in schleimigen Belägen (Fig. 2). Sie waren bald nur vereinzelt vorhanden, bald aber auch dicht nebeneinander. Bald konnten sie schon mit dem freien Auge gesehen werden, bald jedoch nur unter dem Mikroskop. Sie bestanden aus aufgelösten Bakterien und waren regelmäßig durch einen Wall von dem Bakterienbelag abgegrenzt. Die nicht regelmäßig runden Löcher beobachtete ich nur in Bakterienrasen, die aus dem Zusammenfluß von anthraxähnlichen Kolonien entstanden waren. Anfänglich beschränkte sich hier die Bakteriolyse und damit das Einsinken und Durchsichtigwerden des Kulturrasens nur auf wenige Bakterienfäden. Dann sahen die so entstandenen Löcher der Gestalt von Trypanosomen nicht unähnlich aus. Aus dem Zusammenfließen mehrerer solcher trypanosomenähnlicher Löcher entstanden größere, die auch fernerhin unregelmäßiger Form blieben, manchmal aber immerhin einigermaßen einem Kreise ähnlich wurde (Fig. 1 links unten).

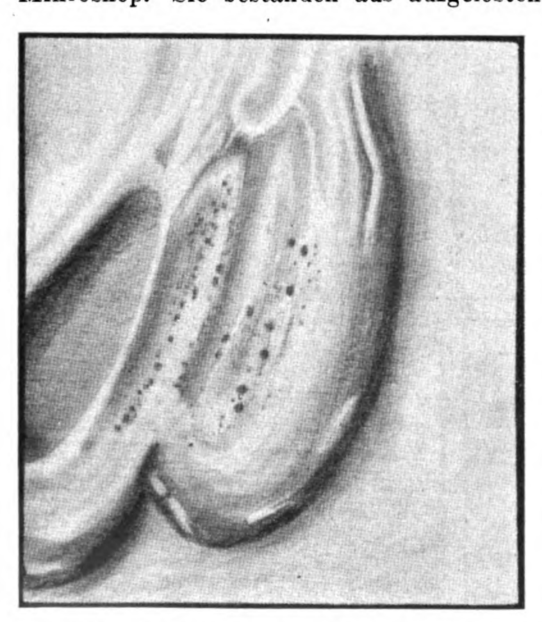


Fig. 2. 5 Tage alter schleimiger Coli-Belag bei 20° mit runden Löchern. 2/1.

Die in den veränderten Kolonien oder Kolonieteilen enthaltenen Bakterien ließen in zwei Richtungen Veränderungen erkennen. Für die mikroskopische Untersuchung verwendete ich nach dem Vorgang von Seiffert, Seiser sowie Preisz Klatschpräparate. Nur wo die Kolonien oder der Belag zu dick waren, nahm ich zu Ausstrichpräparaten Zuflucht. Zur Färbung benutzte ich das von Preisz empfohlene Karboltoluidin, ferner auch Karbolthionin. Mit beiden Farbstoffen färben sich gesunde oder wenig veränderte Bakterien blau, stärker entartete sowie im Absterben begriffene dunkel- oder hellrot je nach dem Grade der Veränderungen.

Die auffallendste Veränderung kam an Bazillen aus anthraxähnlichen Kolonien zu Gesicht. In solchen wuchsen die Bazillen, wie bereits bemerkt, zu langen, gleichmäßig dicken Fäden aus, deren Länge mitunter 50 μ überstieg, während ihre Breite anfänglich jener von normalen Coli-Bakterien gleichkam. Die Coli-Fäden, die in jungen

Kolonien blau gefärbt erscheinen, sehen Fäden des Oedembazillus (Pararauschbrandbazillus) täuschend ähnlich. Die Fadenbildung ist beim Coli-Bazillus die Folge der krankmachenden Wirkung des Bakteriophagen, das Zeichen einer Entartung, mit deren Fortschreiten sich noch weitere mannigfaltige morphologische Veränderungen einstellen. An manchen Stellen verdicken sich nämlich die Fäden und werden daher ungleichmäßig dick. Es entstehen auf diese Weise spindel- und keulenähnliche Formen. Die Fäden färben sich nunmehr nicht blau, sondern rot und enthalten an mehreren Stellen runde, ungefärbte Vakuolen (Fig. 3). Je mehr die Entartung fortschreitet, desto blasser wird die rote Farbe, schließlich lassen sich die Bakterienfäden bloß als Schatten erkennen. So erscheinen die Fäden in den oben bereits erwähnten trypanosomenähnlichen Löchern.

Während somit die Veränderung der Coli-Stäbchen in anthraxähnlichen Kolonien in Fadenbildung, fortschreitender Degeneration und schließlich im Absterben der Fäden bestand, kam es in anderswie veränderten Kolonien zu einer Fadenbildung nicht, sondern es ließen sich andersartige Abweichungen von der normalen Form der Coli-Bazillen nachweisen. Die erkrankten Stäbchen nahmen an Länge etwas zu, färbten sich jedoch zunächst noch blau. Dann verloren die Bazillen an den Enden die Abrundung, sie sahen wie abgestutzt aus, so daß ihre Form einem regelmäßigen Parallelogramm glich. In diesem Stadium färbten sich die Bazillen bereits rot. Mit dem Weiterschreiten der Entartung wurde die rote Farbe immer blasser, Hand in Hand damit wurden auch die Umrisse der Bakterien immer undeutlicher, bis es schließlich zur vollkommenen Auflösung der Bazillen kam.

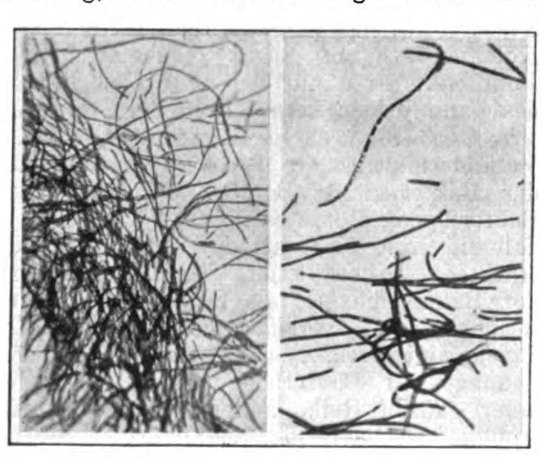


Fig. 3. Links: Rand einer anthraxähnlichen Coli-Kolonie, die sich innerhalb 24 Std. bei 38° entwickelt hat. 400/1. Rechts: Ein Teil derselben bei stärkerer (1000/1) Vergrößerung. Zu Fäden ausgewachsene Bazillen mit Vakuolen.

Zwischen den entarteten Bazillen sah ich oft strukturlose, rotgefärbte Wölkchen, über die Preisz der Meinung ist, daß sie ein Sekret der erkrankten Bazillen darstellen. Ihr Nachweis ist von hervorragender Bedeutung, da nach Preisz ihr Vorhandensein an der Stelle zugrunde gegangener Kolonien oft das alleinige Zeichen einer stattgefundenen Bakteriophagie abgibt.

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß ich bei 41 wahllos untersuchten Coli-Stämmen stets Veränderungen nachweisen konnte, wie sie Preisz an bakteriophaginfizierten Kulturen beobachtet hat. Ich mußte folglich zu der Ueberzeugung gelangen, daß sämtliche Coli-Stämme das bakteriophage Prinzip enthalten mußten.

Zur Bekräftigung dieser Anschauung möchte ich noch folgendes anführen. Es könnte der Einwand erhoben werden, daß es sich bei

meinen Untersuchungen um Veränderungen gehandelt hat, die mit der Bakteriophagie gar nichts zu tun hätten und nur Altersveränderungen darstellten, wie solche ja z. T. als Involutionserscheinungen allgemein bekannt sind. Demgegenüber möchte ich jedoch betonen, daß ich die beschriebenen Veränderungen auch an ganz jungen Kolonien beobachtete, wo von Altersdegeneration noch keine Rede sein konnte. So beobachtete ich Fadenbildung schon in 4—6stündigen Kulturen in ganz primitiven Kolonien, die bloß aus wenigen Bakterien bestanden und nur bei 80facher Vergrößerung gesehen werden konnten, in anderen Fällen wieder verfolgte ich im Thermostatmikroskop stündlich die Entwicklung von Coli-Kolonien und sah bereits ganz junge, 12 bis 20 Std. alte Kolonien der vollkommenen Auflösung anheimfallen.

Die Bakteriophagie als Ursache der beschriebenen Veränderungen mußte ich auch darum annehmen, weil es mir gelang, die beobachteten Regelmäßigkeiten serienweise durch das Umstechen von erkrankten Kolonien beliebig lange zu reproduzieren, wobei die Zahl der veränderten Kolonien sehr oft sogar zugenommen hat. Wohl gelang es mir, in Bouillonkulturen nur bei 11 Stämmen vollkommene Lyse zu erzeugen, das kann jedoch kein Grund zur Ablehnung der oben geäußerten Anschauung sein, da in Agarkulturen auf Bakteriophagie hinweisende Veränderungen stets vorhanden waren, ferner die vollkommene Lyse der Bakterien in Bouillonkulturen nicht das einzige Kriterium der Bakteriophagie darstellt. Schon D'Hérelle hat ja darauf hingewiesen, daß die Lyse nicht als der alleinige Ausdruck der Bakteriophagie betrachtet werden kann, noch klarer erfaßte Preisz das Wesen der Bakteriophagie, als er folgendes schrieb: „Das Wesen der Bakteriophagie ist eine Erkrankung der Bakterienzellen, deren auffälligste Erscheinungsform bzw. Ausgang die Verflüssigung, Auflösung (Verdauung) der Bakterien darstellt; außerdem aber äußert sie sich in einer ganzen Reihe anderer weniger auffälliger Zeichen, wie Hypertrophie, Degeneration, verändertem Stoffwechsel, die zu einer Auflösung führen kann, aber durchaus nicht führen muß."

Betrachtet man folglich nicht die übertragbare Lyse, d. i. die vollkommene Auflösung der Bakterien als einziges Kriterium der Bakteriophagie, sondern berücksichtigt man mit Preisz auch weniger schwere, bei entsprechender Methodik jedoch immerhin nachweisbare Formveränderungen sowohl der Kolonien als auch der in ihnen enthaltenen Bakterien als Zeichen der Bakteriophagie, so kommt man zu dem Ergebnis, daß jede Colikultur das Bakteriophag enthält, und zwar bereits zur Zeit der Herauszüchtung aus dem tierischen Organismus. Da bei meinen Versuchen in den Coli-Kulturen das bakteriophage Prinzip bereits in der 1. Generation enthalten war, so muß ich die Annahme eines spontanen Entstehens des Bakteriophagen ablehnen. Daraus ergibt sich offenbar auch die weitere Schlußfolgerung, daß die Bezeichnung scheinbar plötzlich in Kulturen auftretender Bakteriophagen mit dem Beinamen „spontan" überflüssig und irreführend ist.

Was für den Bakteriophagen in Coli-Kulturen gilt, scheint sich auch auf die Bakterien der ganzen Coli-Typhus-Paratyphus-Gruppe zu beziehen. Dies scheint wenigstens hervorzugehen aus den Versuchen, die ich bisher an 12 Paratyphuskulturen anstellte. Ueber diese Untersuchungen soll jedoch, da sie aus äußeren Umständen unterbrochen werden mußten, bei einer weiteren Gelegenheit berichtet werden.

Selbstverständlich lassen meine Untersuchungen keine Deutung zu über das Wesen der Bakteriophagen. Es bleibt daher auch weiterhin die Frage offen, ob das bakteriophage Prinzip ein Lebewesen ist, das in den Bakterien eine den Infektionskrankheiten hochorganisierter Lebewesen ähnliche Krankheit verursacht, oder einen leblosen Stoff darstellt, der vielleicht dem Gebiete der Variationen angehörige, serienweise übertragbare Veränderungen der Bakterienzellen hervorzurufen vermag. So viel scheint jedoch aus meinen Untersuchungen immerhin hervorzugehen, daß nicht Stoffwechselstörungen, die sich in alternden Kulturen einzustellen pflegen, als Ursache der Bakteriophagie betrachtet werden können, da ich ja bereits in ganz jungen Kulturen Bakteriophagie festzustellen vermochte.

Zusammenfassung.

Das Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen läßt sich dahin zusammenfassen, daß an Colikulturen stets bakteriophage Erscheinungen nachgewiesen werden können, und zwar auch schon bei der Isolierung der Bazillen aus dem Tierkörper. Hieraus ergibt sich, daß die Auffassung, wonach das bakteriophage Prinzip auch spontan in Kulturen entstehen kann, zumindest für die Coligruppe nicht aufrechterhalten werden kann.

Literatur.

Bail, Wien. klin. Wochenschr. 1921. S. 155. — Bordet, Compt. rend. Soc. Biol. T. 90. 1924. p. 96. — Gildemeister u. Mitarb., Berl. klin. Wochenschr. 1921. S. 1355; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. S. 181*; Bd. 91. 1924. S. 12 u. 228; Bd. 93. 1924. S. 402. — D'Hérelle, Le bactériophage, son rôle dans l'immunité. Paris (Masson) 1919; Compt. rend. Soc. Biol. T. 86. 1922. p. 663; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. S. 385. — Joetten, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. S. 195*. — Flu, Ibid. Bd. 90. 1923. S. 362. — Ogata, Ibid. Bd. 90. 1923. S. 329. — Otto u. Mitarb., Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 1579; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 96. 1922. S. 118; Bd. 100. 1923. S. 402. — Preisz, Die Bakteriophagie. Jena (Fischer) 1925. — Reichert, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 235. — Seiffert, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 38. 1923. S. 292. — Seiser, Arch. f. Hyg. Bd. 92. 1923. S. 189.

Untersuchungen über Bakteriophagenkataphorese.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (Stellv. Dir.: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von Dr. **Karl Koch**, Assistent am Institut.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Kataphorese und ihre Erscheinungen sind in den letzten Jahrzehnten besonders in der Kolloidchemie untersucht worden und haben zu wichtigen Erkenntnissen geführt. Da es zwischen kolloidalen Lösungen, Emulsionen und gröberen Suspensionen keine scharfe Grenze

gibt, kann man Erscheinungen, die an jenen gefunden sind, unter gewissen Modifikationen auch an diesen zu sehen erwarten. So hat denn auch in der Biologie diese Untersuchungsmethode oft Anwendung gefunden. Besonders ist das Verhalten von Bakterienaufschwemmungen im elektrischen Strom genau studiert worden.

Bechhold benutzte bei seinen Versuchen in der Hauptsache Typhusbazillen, stellte auch einige Versuche mit Dysenteriebazillen — ohne nähere Angabe der Unterart — und Staphylokokken an und kommt zu dem Ergebnis, daß Bakterien im elektrischen Strom zur Anode wandern. Teague und Buxton kamen bei etwas veränderter Versuchsanordnung in Versuchen mit Typhusbazillen zu denselben Ergebnissen. Ebenso fand Salus für Typhus- und Coli-Bazillen anodische Wanderung. Diese Forscher stellten ihre Versuche im U-Rohr an. — Cernovodeanu und Henri beobachteten unter dem Mikroskop die Wanderung in einer kapillaren Glaskammer. Sie untersuchten Milzbrand-, Tuberkel-, Coli-, Typhus-, Flexner-Bazillen und Staphylokokken. Zur Anode wanderten alle außer den Dysenteriebazillen Flexner, die auffallenderweise zur Kathode wanderten. — Putter hat neuerdings mit der mikroskopischen Methode kataphoretische Untersuchungen an Bakterienaufschwemmungen gemacht und auf Fehlerquellen hingewiesen, die in den Arbeiten früherer Forscher, besonders von Cernovodeanu und Henri, keine Erwähnung fanden, wohl auch nicht beachtet wurden. Putter untersuchte Typhus, Coli, Staphylokokken und Bact. proteus X19, leider nicht Ruhrbazillen. Alle diese Bakterien wanderten auch in seinen Versuchen zur Anode. Man wird vorläufig gut daran tun, die Beobachtungen von Cernovodeanu und Henri von dem angeblich kathodischen Wandern der Flexnerbazillen bis zur anderweitigen Bestätigung mit einer gewissen Reserve aufzunehmen. — Commandon fand, daß Trypanosomen, Hühnerspirochäten und Rekurrensspirochäten zur Kathode wandern. Bei der Spirochaeta pallida war das Ergebnis unsicher. Er gibt aber selbst zu, daß die Versuchsanordnung viele Fehlerquellen in sich birgt. Für die Nagana- und Dourine-Trypanosomen, die aus Mäusen stammten, wurde von Höber jedoch anodische Wanderung gefunden. Da die Erythrozyten zur Anode wandern, die Trypanosomen aber stets mit großen Mengen von diesen vergesellschaftet sind, ist die Beurteilung in diesem Falle sehr schwierig.

Demgegenüber schien schon nach den bisherigen Untersuchungen die Ladung der Bakteriophagenteilchen positiv zu sein. Seiffert, Gildemeister und Herzberg, Yasaki konnten eine klarfiltrierte Bakteriophagenbouillon durch Ausschütteln mit negativen Kolloiden, wie Kieselgur und Kaolin, der lytischen Wirkung berauben; durch positive Kolloide, wie Bolus alba, findet nur ausnahmsweise eine Adsorption statt; amphotere, wie Tierkohle, zeitigen wechselnde Ergebnisse. Die feste Adsorptionsbindung an negative Kolloide wird durch schwache Alkalien, wie Zusatz von 10 Proz. einer n/25 bis n/100 NH_3-Lösung gesprengt; die Flüssigkeit gewinnt ihre lytische Wirkung zurück (Gildemeister und Herzberg). Für die theoretische Auffassung der Bakteriophagenfrage erschien es mithin von Belang, auch ihr Verhalten im Kataphoreseversuch festzustellen; über die Untersuchungen zu dieser Frage, die ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. Carl Prausnitz ausgeführt habe, soll nachstehend berichtet werden.

Für kataphoretische Untersuchungen sind zwei Methoden angegeben: die mikroskopische und die makroskopische. Die mikroskopische Methode besteht darin, daß man die zu untersuchende Suspension in eine kapillare Kammer bringt, in der man mit dem Mikroskop die Wanderungsrichtung der suspendierten Teilchen beobachten kann. Für Untersuchungen an Bakteriophagen kommt diese Methode nicht in Betracht.

Bei Anwendung der makroskopischen Methode bringt man das Untersuchungsmaterial in ein U-Rohr und beobachtet, an welchem

Pol nach Schließung des elektrischen Stromes eine Verstärkung der Trübung auftritt. Bei dieser Methode war natürlich die optische Feststellung der Trübungsgrade beim Arbeiten mit Bakteriophagen nicht verwendbar; hier mußte man vielmehr die üblichen kulturellen Verfahren benutzen. Dagegen ist die bei gröberen Suspensionen zu beachtende Fehlerquelle, die in der Sedimentation der Teilchen begründet liegt, hier ausgeschlossen; denn selbst durch schärfstes Zentrifugieren kann eine Anreicherung der Bakteriophagen im Sediment nicht erreicht werden.

Ein Punkt, der bei der Einrichtung der Apparatur besondere Beobachtung verlangt, ist die Zuführung des elektrischen Stromes. Taucht man Metallelektroden direkt in die bakteriophagenhaltige Bouillon, so treten durch die Elektrolyse zwei Erscheinungen auf, die das Zustandekommen eines einwandfreien Untersuchungsergebnisses unmöglich machen: 1. bilden sich bei der elektrolytsichen Spaltung Gasblasen, die durch fortwährendes Entstehen und Zerfallen unkontrollierbare Strömungen hervorrufen, welche die eigentliche Wanderungsrichtung überlagern können; 2. werden durch die elektrolytische Dissoziation der in der Suspensionsflüssigkeit enthaltenen Salze an der Anode Säuren und an der Kathode Basen gebildet, die den Bakteriophagen in seiner Wirksamkeit schädigen. Diese Fehlerquellen müssen durch Verwendung unpolarisierbarer Elektroden ausgeschaltet werden.

Die Michaelissche Anordnung, bestehend aus Kupferdraht als zuführender Elektrode — 10proz. $CuSO_4$-Lösung — gesättigter KCl-Agarheber — gesättigte wässerige KCl-Lösung — gesättigter KCl-Agarheber — schien für unsere Zwecke nicht geeignet; denn Veränderungen des Salzgehaltes an der Grenze der bakteriophagenhaltigen Bouillon, in die der gesättigte KCl-Agarheber eintaucht, sind hierbei unvermeidlich. Nach den Untersuchungen von Yasaki ist aber der Bakteriophage sehr abhängig von dem ihn umgebenden Medium bei den Adsorptionsversuchen. Um hier nicht eine Fehlerquelle entstehen zu lassen, haben wir daher von der Anwendung der Michaelisschen Elektrode abgesehen.

Anstatt dessen wurde folgendes System versucht: als zuführende Elektrode tauchte ein Platindraht in Bouillon, die durch einen mit Bouillon gefüllten Heber von 3 mm Weite mit der bakteriophagenhaltigen Bouillon verbunden war. Es zeigte sich aber, daß schon nach kurzer Zeit Säuren und Basen durch den Bouillonheber hindurchdiffundiert waren und die pH des Versuchsmaterials so verändert hatten, daß kein Schluß mehr aus dem Versuch gezogen werden konnte.

Nun füllten wir das Heberröhrchen mit 3proz. Nähragar von derselben pH wie das zu untersuchende Material, so daß wir folgendes System hatten: Platindraht — Bouillon — Nähragarheber — bakteriophagenhaltige Bouillon. Um eine Diffusion von Säuren und Basen sofort erkennen zu können, wurde dem Agar etwas Lackmustinktur zugesetzt. Diese Anordnung hat sich bei allen nunmehr zu beschreibenden Untersuchungen bewährt.

Die Versuche wurden ausgeführt mit dem Shiga-Bakteriophagen Ludwig, den das Institut der Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Bail verdankt. Zu jedem Versuch wurde das Lysin frisch angesetzt und nach 12—24stünd. Bebrütung durch eine Berkefeld-Liliput-V-Kerze filtriert. Das Filtrat wurde in ein U-Rohr gefüllt, dessen Weite 10 mm betrug, während die Schenkel 200 mm, das Mittelstück

100 mm lang waren. Am Ende jedes Schenkels befand sich ein Glashahn, so daß das ganze Rohr durch Schließen der Hähne in 3 Teile zerlegt werden konnte. Im wagerechten Teil befand sich zur Entnahme von Material ein durch Gummistopfen verschlossenes Loch. Waren die Hähne geschlossen, so konnte die Entnahme leicht bewerkstelligt werden, ohne daß ein Herauslaufen der Flüssigkeit aus dem Mittelteil zu befürchten war. In die Oeffnungen der Schenkel tauchten, durch Korken abgedichtet, die zu den Elektroden führenden Agarheber (Fig. 1).

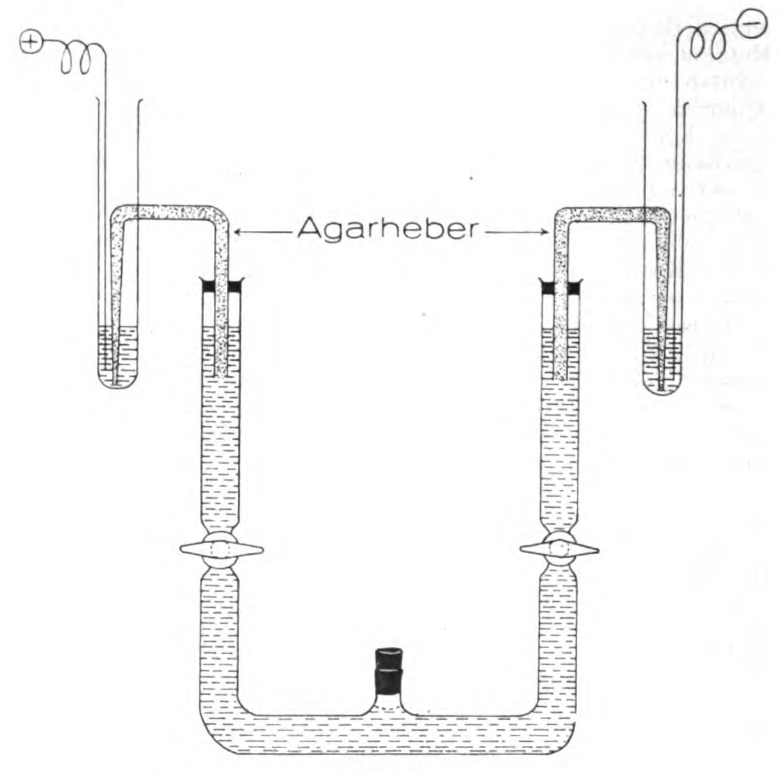


Fig. 1.

Zur Feststellung einer durch den elektrischen Strom bewirkten Wanderung der Bakteriophagen wurden in bestimmten Zeitabständen von der Anode, der Kathode und aus der Mitte Proben von je 0,1 ccm entnommen und nach der Verdünnungsmethode von Appelmans und Werthemann unter Vermeidung des „Pipettenfehlers“ (Doerr) und nach dem Plattenausspatelungsverfahren von C. Prausnitz auf ihren Lysingehalt ausgewertet. Gleichzeitig wurde zur Kontrolle die unbehandelte Bakteriophagenbouillon geprüft, um die Konstanz der Bakteriophagen und die Genauigkeit der Auswertungstechnik zu kontrollieren. Sämtliche Proben wurden sofort nach der Entnahme verarbeitet.

Die verwendete Apparatur lieferte jedoch keine eindeutigen Ergebnisse. Wenn man die Gesamtheit der Versuchsprotokolle betrachtet, gewinnt man wohl den Eindruck, daß an der Kathode eine An-

reicherung des Lysins stattfindet. Doch sind die Zahlen so wenig beweisend, daß ich aus Platzersparnis auf ihre tabellarische Wiedergabe verzichten möchte. Auch kamen hin und wieder Anreicherungen an der Anode vor. Die Mitte zeigte etwa den gleichen Lysingehalt wie der unbehandelte Bakteriophage.

Als sicher feststehend konnte aber schon nach diesen Versuchen gesagt werden, daß nach 9stünd. Stromzufuhr eine deutliche Abschwächung an beiden Polen auftrat, die nicht durch eine Veränderung der pH bedingt sein konnte; denn diese war gleich geblieben. Nach 24stünd. Durchströmung waren Säuren und Basen durch den Agarheber hindurchdiffundiert und hatten die pH wesentlich verändert.

Die Unbrauchbarkeit dieser Methode war dadurch bedingt, daß durch das Herausnehmen und Wiedereintauchen der Agarheber, durch das Schließen und Oeffnen der Hähne der Apparat zu sehr erschüttert wurde. Außerdem entstanden nach der Entnahme der Proben Strömungen, die das Zustandekommen eines einwandfreien Untersuchungsergebnisses unmöglich machten.

Es wurde daher eine Versuchsanordnung ausgearbeitet, bei der mindestens an 2 Stellen — Anode und Kathode — eine Entnahme möglich war, ohne den Apparat zu erschüttern, und ohne Strömungen hervorzurufen (vgl. Fig. 2).

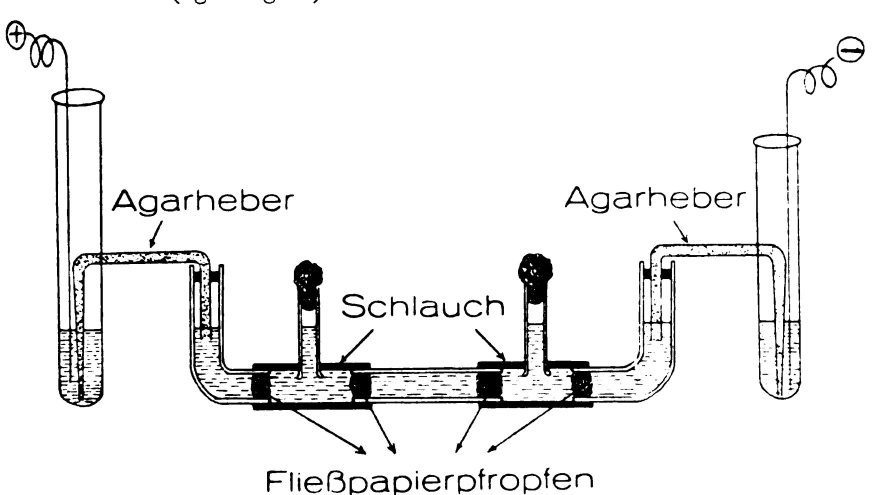


Fig. 2.

Ein horizontales Rohrsystem aus Glasröhren und Gummischläuchen wurde durch 4 Pfropfen aus feuchtem Fließpapier in 5 Abschnitte geteilt. Diese Pfropfen verhinderten das Entstehen von Strömungen, setzten aber der Wanderung von Bakteriophagen und Ionen keinen Widerstand entgegen. Die Kombination von Glasrohr und Gummischlauch mußte gewählt werden, um nach der Sterilisation (im strömenden Dampf) den Apparat mit der lysinhaltigen Bouillon unter sterilen Bedingungen füllen zu können.

Es wurden bei Zimmertemperatur (etwa 20°) Versuche angestellt mit einer Spannung von 220 Volt, 110 Volt und 440 Volt. Die Zelle setzte dem Strom einen Widerstand entgegen von 100000 Ohm; die Stromstärke betrug dementsprechend 2, 1 oder 4 Milliampère.

I.

2 Versuche mit **220** Volt hatten folgendes Ergebnis:

Versuch 1a.

Herkunft der Probe	Lochzahl (Ausspatelungsmethode) nach			Lysinexponent e^L nach		
	3 Std.	6 Std.	9 Std.	3 Std.	6 Std.	9 Std.
Unbehandelt. Bph.	**467**	453	398	8	8	8
Kathode	**730**	538	437	**9**	9	8
Anode	**355**	368	352	8	8	8

Versuch 1b.

Herkunft der Probe	Lochzahl (Ausspatelungsmethode) nach			Lysinexponent e^L nach		
	3 Std.	6 Std.	9 Std.	3 Std.	6 Std.	9 Std.
Unbehandelt. Bph.	**161**	155	172	**9**	9	9
Kathode	**177**	159	129	**9**	9	8
Anode	**148**	123	123	8	8	8

Es ergab sich also: 1) Der unbehandelte Bakteriophage blieb annähernd konstant. — 2) An der Kathode fand innerhalb von 3 Std. eine deutliche Verstärkung, an der Anode eine entsprechend starke Verringerung der lytischen Kraft statt. — 3) In den späteren Stunden des Versuchs ging auch die lytische Kraft der Kathodenprobe zurück, offenbar infolge einer sekundären (elektrolytisch bedingten?) Schädigung des Bakteriophagen. — 4) Die Zahlen ergeben einen erneuten Beweis für den Grad von Genauigkeit der Ergebnisse, die mit der Ausspatelungsmethode erzielt werden. Keine Methode gibt auch nur annähernd so zuverlässige Resultate und so feine Ausschläge.

II.

Versuche, die mit einer Stromspannung von **110** Volt ausgeführt wurden, ließen eine Wanderung des Bakteriophagen nicht erkennen. Doch zeigte sich nach 24stünd. Einwirkung des Stromes eine deutliche Abschwächung, ohne daß Veränderungen der pH nach der Indikatorenmethode von Michaelis festzustellen waren.

Versuch 2.

Herkunft der Probe	Lochzahl (Ausspatelungsmethode) nach				Lysinexponent e^L nach			
	3 Std.	6 Std.	9 Std.	24 Std.	3 Std.	6 Std.	9 Std.	24 Std.
Unbehandelt. Bph.	150	144	131	194	10	10	10	10
Kathode	160	114	79	92	10	9	9	8
Anode	153	125	86	70	10	9	9	8

Da man aus diesen Versuchen erkennen konnte, daß die Wanderungsgeschwindigkeit abhängig war von der Stromspannung, so

konnte man bei Anwendung einer Spannung von 440 Volt erwarten, daß die Wanderung schon früher nachweisbar sein würde.

III. (440 Volt).

Versuch 3a.

Herkunft der Probe	Lochzahl (Ausspatelungsmethode) nach			Lysinexponent e^L nach		
	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.
Unbehandelt. Bph.	262	.	267	9	.	9
Kathode	255	212	275	9	9	9
Anode	190	165	168	8	8	8

Versuch 3b.

Herkunft der Probe	Lochzahl (Ausspatelungsmethode) nach			Lysinexponent e^L nach		
	1 Std.	2 Std.	4 Std.	1 Std.	2 Std.	4 Std.
Unbehandelt. Bph.	179	.	185	9	.	9
Kathode	161	108	119	9	8	8
Anode	93	94	58	8	8	7

Auch hier ist an der Anode frühzeitig eine erhebliche Schwächung der lytischen Kraft festzustellen, während an der Kathode keine Verstärkung erkennbar ist. Wahrscheinlich ist dies so zu erklären, daß auch in diesen Versuchen eine gleichsinnige Wanderung der Bakteriophagenteilchen wie bei 220 Volt erfolgt, daß aber infolge der stärkeren Stromspannung die sekundäre Zerstörung der Bakteriophagen früher einsetzt.

Das Ergebnis dieser Versuche bestätigt die Ueberlegung, die wir an den Ausfall der Adsorptionsversuche geknüpft hatten. Der Bakteriophage Lauda g zeigt bei geeigneter Versuchsanordnung eine ausgesprochen kathodische Wanderung, besitzt also eine elektropositive Ladung. Die Wanderung ist am besten bei 220 Volt nach 3 Std. erkennbar; später findet offenbar eine sekundäre Zersetzung des Bakteriophagen statt.

Literatur.

1) Bechhold, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 48. 1904. S. 385. — 2) Cernovodeanu u. Henri, Compt. rend. Soc. Biol. T. 61. 1906. p. 200. — 3) Commandon, zit. nach Traube, Biochem. Zeitschr. Bd. 69. 1915. S. 309. — 4) Gildemeister u. Herzberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 91. 1923. S. 228. — 5) Putter, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 32. 1921. S. 538. — 6) Salus, Biochem. Zeitschr. Bd. 84. 1917. S. 378. — 7) Seiffert, Med. Klin. 1923. S. 833. — 8) Teague u. Buxton, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 57. 1907. S. 77. — 9) Yasaki, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 102. 1924. S. 554.

Ein Fall von ständigem Vorkommen Paratyphus B-ähnlicher Bakterien in Leitungswasser.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag (Vorstand Prof. O. Bail).]

Von **E. Singer** und **F. Hoder.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Der Nachweis von Bakterien der Typhus-Paratyphusgruppe in natürlich vorkommenden Wässern gehört auch heute noch zu den Seltenheiten, wenn er auch schon in einer beträchtlichen Anzahl von Fällen gelungen ist. Kapeller kann 37 sicher positive Befunde aus der Literatur anführen. Noch häufiger gelingt der Nachweis in Eis, das zur Verpackung von Seefischen gedient hat.

Der Fall, über den hier berichtet werden soll, unterscheidet sich in mehreren Punkten wesentlich von den übrigen bekannten Fällen, so daß sich seine Mitteilung rechtfertigt. Während es sich mit wenigen Ausnahmen bei den übrigen bekannten Fällen um Zufallsbefunde handelte, der betreffende Keim einmal aus einer Wasserprobe gezüchtet und bei Wiederholung der Untersuchung nicht wieder aufgefunden werden konnte, gelang in unserem Falle der Nachweis regelmäßig in jeder neu eingesandten Wasserprobe durch nunmehr 1 Jahr. Das betreffende Wasser stammt aus einer Talsperrenanlage, die Trink- und Nutzwasser für eine mittelgroße Provinzstadt Böhmens liefert. Das Wasser, von dem immer mehrere an verschiedenen Stellen der Anlage entnommene Proben eingesandt werden, wird bereits seit Jahren in 14tägigen Abständen am Institut untersucht und zeigte fast immer einwandfreie Zusammensetzung.

Die Talsperre und die Filteranlage, in welcher das Rohwasser durch langsame Sandfiltration gereinigt wird, wurde vor rund 20 Jahren in vorbildlicher Weise angelegt. Das Einzugsgebiet der Sperre ist als äußerst günstig zu bezeichnen, da es zum allergrößten Teil aus Wald besteht. Nur an 2 Punkten kommt Kulturland — Weiden und Aecker —, in die Nähe des Wasser, und zwar einmal an der Talsperre selbst, deren eine Seite, allerdings durch einen ca. 20 m breiten Streifen sterilen Bodens und den gemauerten Umlaufgraben der Sperre geschützt, an Weideland angrenzt, das einen Abhang des Tales, in dem die Talsperre liegt, einnimmt. Das Hochplateau, in welches das Tal eingeschnitten ist, trägt an dieser Stelle Aecker, die etwas den Abhang herunterreichen, aber rund 100 m vom Ufer der Talsperre entfernt bleiben. Außerdem entspringt ein Zufluß des die Talsperre speisenden Baches ebenfalls aus diesem Hochplateau. Häuser sind im ganzen Einzugsgebiet nur 3, und zwar das Haus des Wächters und 2 Försterhäuser. Alle sind mit betonierten Senkgruben versehen, das eine Forsthaus, das an dem die Sperre überragenden Talhange steht, ist außerdem durch einen betonierten Abzugsgraben von der Sperre abgeschlossen. Längs des einen Talsperrenufers und längs des Zuflusses der Talsperre führt ein Fahrweg, dessen Abwässer in der Höhe der

Sperre durch einen betonierten Graben, gegen den das Profil der Straße geneigt ist, abgeleitet und unschädlich gemacht werden. Höher oben ist dieser Fahrweg ungeschützt, die Wasserrasten führen sogar in den Zufluß der Sperre hinein. Alle diese Verhältnisse werden durch die schematische Skizze erläutert.

Das Talsperrenwasser wird durch langsame Sandfiltration gereinigt. Zu diesem Zwecke sind 4 Filter mit je 400 m² Oberfläche vorgesehen. Der tägliche Wasserbedarf beträgt im Mittel 3000 m³, im Sommer steigt er mitunter durch Wochen auf 5000 m³ und darüber, so daß die Filter stark beansprucht werden, was sich auch regelmäßig durch eine Verschlechterung des bakteriologischen Befundes anzeigt. Was

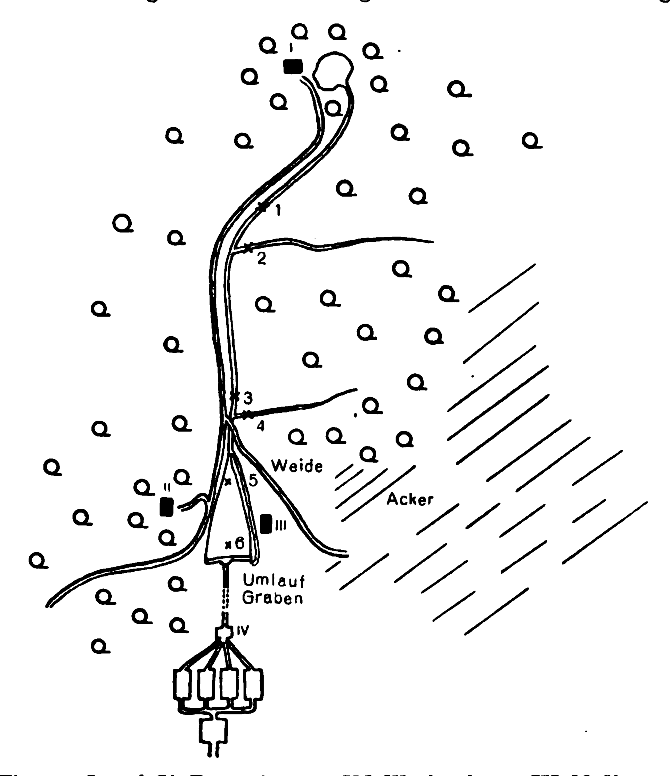


Fig. 1. I und II Försterhäuser, III Wächterhaus, IV Meßhaus.

nun das Vorkommen des verdächtigen Stammes R betrifft, so wurde dieser am 8. 1. 1925 erstmalig aus dem Rohwasser gezüchtet, welches aus dem Meßhaus geschöpft worden war. In den übrigen Proben, die oberhalb (aus der Talsperre) und unterhalb, aus den Filterabflüssen, dem Reservoir und aus dem Stadtrohrnetz entnommen waren, konnte der Keim nicht nachgewiesen werden. Die nach wenigen Tagen neuerlich vorgenommene Untersuchung frisch eingesandter Proben hatte das gleiche Resultat. Abermals konnte aus dem Meßhaus der Keim gezüchtet werden, während das Wasser aus den anderen Teilen der Anlage frei von ihm war. Der Befund blieb auch durch weitere 2 Monate der gleiche, trotzdem inzwischen alle möglichen Maßnahmen durchgeführt wurden.

Mit Einsetzen der wärmeren Witterung im April zeigte es sich, daß die Verbreitung des Keimes in der Talsperrenanlage zunahm. Zuerst wurde er Anfang April im Talsperrenwasser nachgewiesen. Ende April auch in den Filterabflüssen und im Reservoir. Er hatte die Filter bereits durchwandert und das Reinwasser infiziert. Diese Verbreitung behielt der Keim während des ganzen Sommers und Herbstes 1925, bis Mitte Oktober. Bei der letzten Untersuchung Ende November war er aus dem Talsperrenwasser und den Filterabflüssen wieder verschwunden und wieder wie zu Anfang nur in dem aus dem Meßhaus geschöpften Rohwasser nachweisbar.

Man geht wohl nicht fehl, wenn man dieses eigenartige Verhalten mit den Temperaturverhältnissen in Zusammenhang bringt. Der Keim, der jedenfalls den ihm im Wasser gebotenen Bedingungen voll angepaßt war und sich im Wasser vermehrte, konnte sich während der kalten Jahreszeit nur in den geschlossenen Teilen der Anlage, in der von der Talsperre zum Meßhaus führenden unterirdisch verlegten Rohrleitung und dem Meßhaus halten, während späterhin mit Einsetzen der wärmeren Witterung die Lebensbedingungen auch in den offenen Teilen der Anlage günstig wurden und auch die Talsperre und die Filter infiziert wurden.

In Anbetracht der praktischen Wichtigkeit dieser Befunde ordnete das Sanitätsdepartement der politischen Landesverwaltung in Prag eine amtliche Begehung der ganzen Anlage und eine bakteriologische Untersuchung des Wassers an Ort und Stelle an. Diese Untersuchungen, die im Sommer zweimal vorgenommen wurden und bei denen an 24 Stellen Proben entnommen wurden, hatten folgendes Resultat. Die Stellen der Probeentnahmen sind ebenfalls in der Skizze eingetragen.

Tabelle I.

Nr. der Probe	Keimzahl	Coli	R	Anmerkung
1	384	θ	θ	
2	ca. 212	+	θ	Proteus +
3	420	+	+	
4	99	θ	θ	
5	126	θ	θ	
6	203	θ	+	

Bemerkt werden soll, daß bereits im November 1924, also 1—2 Monate bevor der Nachweis des Stammes R zum 1. Mal gelang, wiederholt Bact. coli in dem Talsperrenwasser nachgewiesen werden konnte.

Der Stamm R wurde stets aus Traubenzuckerbouillonröhrchen gezüchtet, die zum Zwecke des Colinachweises mit verschiedenen Mengen des zu untersuchenden Wassers beimpft wurden. Nach 24 stünd. Bebrütung wurde von diesen Röhrchen auf Lackmus-Milchzuckeragar ausgestrichen und die gewachsenen Kolonien wurden weiter untersucht. In einem großen Prozentsatz der positiven Proben konnte der Stamm R auf diese Weise bereits auf der 1. Platte in Reinkultur erhalten werden. Mitunter waren die Kolonien untermischt mit Kolonien von verschiedenen anderen Bakterien, gewöhnlich Kokken. Die Kolonien des Stammes R auf Lackmus-Milchzuckeragar waren in den ersten Generationen auf künstlichen Nährböden stecknadelkopfgroß, glasklar und veränderten den Nährboden nicht. Geruch wurde nicht entwickelt,

Gelatine nicht verflüssigt, Bouillon gleichmäßig getrübt. Mikroskopisch waren die Kolonien zusammengesetzt aus kurzen, gramnegativen, peritrich begeißelten und lebhaft beweglichen Stäbchen, die vollkommen den Bakterien der Typhusgruppe glichen. Nach einigen Nährbodenpassagen wurde das Wachstum sichtlich besser, die Kolonien erreichten nach 24 Std. Bebrütung einen Durchmesser von 2—3 mm, erschienen etwas trüb chagriniert und bildeten einen eigenartigen, am ehesten als fäkulent zu bezeichnenden Geruch. Ließ man die Platten einige Tage bei Zimmertemperatur stehen, so bildete sich ein feiner, weißlicher Schleimwall um die Kolonie.

Das kulturelle Verhalten des Keimes wurde durch die Nährbodenpassagen nicht verändert und war stets dem des Paratyphus B vollkommen gleich.

Tabelle II.

	Lackmusmolke	Barsiekow-Lösung			Traubenzucker-Agar	Neutralrot-Agar	Fuchsin-Sulfit-Agar	Conradi-Drigalski	Lackmus-Mannit-Agar	Lackmus-Maltose-Agar	Indol
		Milchzucker-Nutrose	Traubenzucker-Nutrose	Mannit-Nutrose							
Stamm R	erst rot, dann blau	unverändert	rot geronnen	rot unvollständig geronnen	Gas	Gas fluor.	farblos	blau	rot	rot	θ

Die Lackmusmolke zeigt den charakteristischen Farbumschlag. Nach 7 Std. Rötung, dann Blaufärbung. Lediglich in der Mannit-Nutrose-Lösung zeigt sich eine schwächere Vergärung, die nur zu einer unvollkommenen Gerinnung führt. Doch kommen solche Unterschiede in der Stärke der Vergärung auch bei sicheren Paratyphusstämmen vor. Milchzucker-Nutrose bleibt unverändert. Die Traubenzucker-Nutrose-Lösung wird gerötet und zur Gerinnung gebracht. Im Traubenzucker-Agar zeigt sich eine starke Gasbildung. Im Neutralrot-Traubenzucker-Agar tritt Gasbildung und Fluoreszenz auf. Auf Sulfit-Fuchsin-Agar wachsen zarte fartlose Kolonien. Mannit und Maltose werden normal vergoren. Indol wird nicht gebildet.

Tabelle III.

	$^1/_{50}$	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{5000}$	K	
β-Serum	+++	+++	+++	+++	++±	+±	±	θ	g. u. f.
B-Serum	+++	+++	+++	++	±	θ	θ	θ	f.
Breslau-Serum	±	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	

Die Tabelle zeigt das Verhalten des Stammes R in verschiedenen Immunseris. Er agglutiniert im Paratyphus β-Serum in groben und feinen Flocken bis zur Titergrenze. Im Paratyphus B-Serum geht er rein feinflockend bis zu einer Serumverdünnung von 1:1000. Im Serum von Paratyphus Breslau[1]) wird R nur spurenweise ausgeflockt (Verdünnung 1:50).

1) Der Paratyphus Breslau, der uns zur Verfügung stand, ist ein alter Laboratoriumsstamm, der vermutlich schon verändert war. Darauf dürfte sowohl die ge-

Dieser Versuch zeigt, daß der Stamm R auch in seiner antigenen Struktur Verwandtschaft mit der Gruppe des Paratyphus B aufweist.

Tabelle IV.

	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	K	
Stamm R	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++±	θ	g. u. f.
Paraty β	++	±	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
Paraty B	++	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	

Ein Kaninchen, 3mal im Abstande von je 5 Tagen mit einer Oese zunächst abgetöteter, dann lebender Keime des Stammes R behandelt, lieferte ein Serum, in dem der Ausgangsstamm sehr hoch in groben und feinen Flocken agglutiniert wurde. Dagegen zeigen ein abnormes Verhalten die Stämme Paratyphus β und B. Während der Stamm R im Immunserum der beiden Paratyphen bis zu einer ziemlich hohen Verdünnung ausgeflockt wird, agglutiniert β im R-Serum lediglich bis zu einer Verdünnung von 1:100. Paratyphus B zeigt eine Beeinflussung gar nur bei 1:50. Breslau wird nicht agglutiniert, Bac. enteritidis Gärtner wird schwach ausgeflockt bis 1:50.

Es ergab also die Agglutination wohl die nahe Verwandtschaft des neuen Stammes mit den schon bekannten, eine ziemlich weitgehende Rezeptorengemeinschaft, die aber eine Identifizierung nicht zuließ. Der Castellanische Erschöpfungsversuch lieferte weitere Aufschlüsse.

Tabelle V.

Serum Paratyphus β (Titer 1:10000).
5 ccm einer Verdünnung von 1:100 werden mit einer Kolleschale des Stammes R erschöpft.

	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	K	
Stamm R	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
Paraty B	+++	+++	+++	+++	++±	++	θ	g.

Der Versuch zeigt, daß der Stamm R dem B-Serum die feinflockenden Agglutinine entzieht, die grobflockenden aber unbeeinflußt läßt.

Tabelle VI.

Serum Paratyphus β (Titer 1:8000).
5 ccm einer Verdünnung 1:100 erschöpft mit einer Kolleschale R.

	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	K	
Stamm R	±	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
Paraty β	+++	+++	+++	+++	++	+	θ	f.

Dem Serum entzieht der Stamm R dagegen nur das grobflockende Agglutinin, obgleich er im Serum grob und fein agglutiniert wird. Daraus kann man erkennen, daß der Stamm R in seiner antigenen Struktur trotz großer Verwandtschaft mit der Gruppe des Paratyphus B. sich durch die Rezeptorenanalyse von ihm unterscheiden läßt. Die hohe Agglutination im Eigenserum ergibt das Vorhandensein eines

ringe Agglutination von R, wie auch das refraktäre Verhalten von Paratyphus Breslau im Serum des Stammes R zurückzuführen sein.

spezifischen thermolabilen und eines spezifischen thermostabilen Hauptrezeptors, die den Stamm R von den genannten Paratyphen unterscheiden. Die Agglutination im Serum β und B ist nur durch Nebenrezeptoren bedingt, woraus man zwar eine gewisse Verwandtschaft des Stammes R mit der Paratyphus-Gruppe ableiten kann, was aber nicht gestattet, den Stamm R mit einem der Stämme aus der Ty-Paratyphusgruppe zu identifizieren, woraus der Wert der Rezeptorenanalyse für die bakteriologische Diagnostik zur Genüge hervorgeht. Durch einfache Agglutination und kulturelle Untersuchung wäre der Stamm R zweifellos als Paratyphus B diagnostiziert worden.

Theoretische Untersuchungen der letzten Zeit haben ergeben, daß durch äußere Schädlichkeiten, die zu dem bekannten Bilde der Variation führen, gewöhnlicher Coli die biologischen Eigenschaften von Paratyphen annehmen kann. Hoder konnte nachweisen, daß mittels Bakteriophagenfestigung aus Bact. coli commune Variationsformen entstehen, die sich kulturell zwar wie Coli verhalten, aber in Seris von Paratyphen außerordentlich hoch, oft bis zur Titergrenze agglutinieren, und zwar vielfach in groben und feinen Flocken. Diese Tatsache deutet auf die nahe Verwandtschaft von Coli und Paratyphus hin, und zeigt auch die Unzulänglichkeit der Agglutination als Mittel zur diagnostischen Differenzierung. Es gelang auch, einzelne Stämme zu erhalten, die von den Ausgangsformen so weit abwichen, daß bei objektiver Betrachtung die Diagnose Coli nicht mehr ohne weiteres möglich war. Die Stämme verhielten sich kulturell wie Paratyphen, hatten das Gärungsvermögen, das den normalen Coli auszeichnet, teilweise verloren und bildeten auch kein Indol. Diese Ergebnisse legen den Gedanken nahe, daß auch in der Natur durch verschiedene Einflüsse, denen ein Bakterium der Coli-Gruppe ausgesetzt ist, ähnliche Umwandlungen stattfinden können, und wir glauben auch, daß es sich in unserem Falle bei dem Stamm R um eine stabile Mutationsform von Bact. coli handelt. Diese Annahme wird weiter begründet durch die Tatsache, daß 2 Monate vor dem Auffinden des Stammes R in der Talsperre Coli nachgewiesen wurde und daß ferner bei der Untersuchung, die an Ort und Stelle vorgenommen wurde, im Zufluß zur Talspeerre Coli, in dem Wasser der Talsperre selbst und in ihrem Abfluß der Stamm R gefunden wurde.

Daraus geht zur Genüge hervor, daß bei der Beurteilung ähnlicher Befunde mit größter Vorsicht vorgegangen werden muß, und es ist wahrscheinlich, daß eine große Zahl der bisherigen Paratyphusfunde in Wässern auf ähnliche Keime zurückzuführen ist. Gegen die im Vorhergehenden entwickelte Ansicht ließe sich der Einwand machen, daß bei der tatsächlich bestehenden nahen Verwandtschaft des Stammes R mit den Bakterien der Paratyphusgruppe die Annahme einer Variationsform von echten Paratyphus B wahrscheinlicher wäre. Dagegen sprechen die lange Dauer des Vorkommens des Keimes im Wasser, das völlige Fehlen von Paratyphuserkrankungen in der mit Wasser versehenen Stadt und schließlich die theoretischen Befunde über die Variation in der Paratyphusgruppe. In der von der Wasserleitung versorgten Stadt traten während des Vorkommens des Stammes R in Leitungswasser 26 Erkrankungen auf, die als infektiöse Darmerkrankungen (Typhus, Paratyphus) gemeldet wurden. Durch die Freundlichkeit des Primarius des dortigen Krankenhauses war es uns möglich, die Sera von 3 Fällen, die sich bereits in der Rekonvaleszenz

befanden, zu untersuchen. Diese Sera agglutinierten sämtlich Typhusbazillen bis zu Verdünnungen 1:1000 und darüber, keines zeigte in der Verdünnung 1:50 Agglutination mit dem Stamme R oder mit Paratyphus B. Auch durch die epidemiologischen Ermittlungen ließ sich kein Zusammenhang zwischen diesen Typhusfällen und der Wasserversorgung nachweisen.

Auch die theoretischen Befunde über Variationserscheinungen in der Paratyphusgruppe machen eine Ableitung des Stammes R von Paratyphus B unwahrscheinlich. Breinl und Fischer, die in alten Kulturen auftretende Spontanvarianten serologisch untersuchten, konnten niemals eine Neuerwerbung von Rezeptoren nachweisen. Ebensowenig ergaben die Untersuchungen von Breinl und Hoder über die Variationserscheinungen unter dem Einfluß von Bakteriophagen ein derartiges Resultat. Dagegen kommt eine Neuerwerbung von Rezeptoren der Paratyphusgruppe bei Bact. coli vor (Hoder).

Auf welchem Wege der Stamm R in die Anlage gelangt ist, konnte auch durch die bakteriologische Untersuchung des Wassers an Ort und Stelle nicht entschieden werden. Es bleiben zumindest 2 Möglichkeiten offen: Einerseits der Seitenbach des Talsperrenzuflusses (in der Skizze mit 2 bezeichnet), in dessen Wasser Bact. coli nachgewiesen wurde, andererseits die längs des Hauptbaches führende Fahrstraße, die gewiß genügend Verunreinigungsmöglichkeiten bietet.

Unbedenklich und für die Verunreinigung des Wassers nicht verantwortlich sind jedenfalls die im Niederschlagsgebiet der Sperre befindlichen Häuser. Der Hauptbach ist oberhalb des infizierten Zuflusses frei von Coli; es können daher die Abwässer des oberen Forsthauses keine Rolle spielen. Dagegen findet die Infektion des Wassers bereits oberhalb der Sperre statt, während die 2 übrigen Häuser durch ihre Abwässer erst die Sperre selbst infizieren könnten, da sie in ihrer Höhe liegen. Im Gegenteil wird der bakteriologische Wasserbefund in der Sperre und in den tieferen Partien der Anlage besser, als er in den obersten Partien der Anlage ist. So konnte während der ganzen Zeit niemals Bact. coli in der Sperre gefunden werden, während der Nachweis in dem Talsperrenzufluß wiederholt gelang.

Zusammenfassung.

Aus einer Trinkwasseranlage wird wiederholt ein Keim gezüchtet, der sich kulturell und agglutinatorisch vom Paratyphus B nicht unterscheiden läßt. Auf Grund der genauen serologischen Untersuchung und des Vorkommens des Keimes in den einzelnen Teilen der Anlage wird die Diagnose Paratyphus B abgelehnt und der Stamm R als spontan entstandene Mutationsform von Bact. coli aufgefaßt.

Literatur.

Breinl u. Fischer, Ztschr. f. Immunf. 1923, 35 — Breinl u. Hoder, Ibid. 1925. — Kapeller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig 1925. — Hoder, Ztschr. f. Immunf. 1925.

Nachdruck verboten.

Coli-Agglutinationen mit tierischen Immunseren.

[Aus d. Hyg. Institut d. Univ. Leipzig (Dir.: Geh. R. Prof. Dr. Kruse) und dem Städt. Säuglingsheim Dresden (Dir.: Prof. Dr. Bahrdt).]

Von Dr. **Friedrich Strunz.**

Bald nach der Entdeckung der Tatsache, daß das Serum eines mit einer Bakterienart immunisierten Tieres die Fähigkeit bekommt, diese zu unbeweglichen Häufchen zu verkleben, zu „agglutinieren“, begannen viele Untersuchungen, es bei den verschiedenen Bakterien auszuprobieren und zu bestätigen. Daß die Erscheinung der Agglutination nicht nur rein wissenschaftlich-bakteriologischen Wert hat, zeigte sich nach Widals Entdeckung, daß durch das Serum typhuskranker Menschen die Typhusbazillen schon bald nach der Infektion agglutiniert werden. Dadurch wurde die Diagnose des Typhus mit einem Schlage um ein einwandfreies Hilfsmittel bereichert, das dem positiven Bakterienbefund in den Ausleerungen an diagnostischem Wert gleich kommt und dabei mit einfacherer Technik angewendet werden kann.

Es ist natürlich, daß sich die Versuche einer Serodiagnostik bald auch auf andere infektiöse Krankheiten erstreckten.

Auch mit den Bakterien der Coli-Gruppe, die ja nicht nur als Darmbakterien, sondern auch als Erreger von Blasenentzündungen und Eiterungen verschiedenster Lokalisation bekannt waren, wurden Agglutinations- und Immunisierungsversuche angestellt. Es zeigte sich jedoch schon sehr bald, daß man es bei den Coli-Bakterien durchaus nicht mit einer so einheitlichen Gruppe wie den Typhusbazillen zu tun hat, und eine einwandfreie Serodiagnostik einer Coliinfektion kaum möglich ist.

Die ersten Autoren, die diese Frage um 1899 bearbeiteten (Bensaude, Pfaundler, Smith, Rodet) sind sich darüber einig, daß von einer serologischen Einheitlichkeit der Coli-Bakterien nicht gesprochen werden kann. Nicht nur die Agglutinationsversuche mit Patientenseren gaben kein einheitliches Resultat (Achard, Widal u. Sicard, Pfaundler), sondern auch die Seren immunisierter Tiere agglutinierten durchaus nicht immer die zur Immunisierung verwandten Stämme (Bensaude, Rothberger). Wenn sie es aber taten, so zeigte sich fast stets, daß sich die Agglutination nur auf den homologen Stamm erstreckte, während andere morphologisch und kulturell ebenso einwandfreie Coli-Stämme nicht agglutiniert wurden oder nur eine geringe Mitagglutination in anscheinend uneinheitlicher Weise ergaben. Pfaundler (1, 2) meinte damals, daß diese meist nur niedrige Agglutination anderer Coli-Stämme in einem Coli-Immunserum nicht ein Zeichen serologischer Verwandtschaft, sondern nur ein Zeichen unspezifischer agglutinatorischer Leistungsfähigkeit sei.

Von den eingehenderen Arbeiten der damaligen Zeit will ich nur die von Radziewsky, Jatta und Rothberger etwas genauer referieren (6).

Radziewsky (5) (1899 und 1900) (6) stellte 8 Coli-Immunseren, durch subkutane Injektionen von bei 70° abgetöteten in Kochsalz aufgeschwemmten Bakterien, teils von Kaninchen, teils von Hunden her und untersuchte 64 Coli-Stämme aus dem Darm desselben Individuums, die zu verschiedenen Zeiten abgeimpft waren. Von den Seren agglutinierten 7 den homologen Stamm bis 1:1000, 1 bis 1:10000. Auch er fand keine einheitlichen Agglutinationen und kommt zu dem Schluß, daß die Gruppe der Coli-Bakterien in eine große Menge Unterabteilungen zerfällt.

Jatta (7) (1900) erreichte durch subkutane Injektionen mit lebenden in keimfreier Fleischbrühe suspendierten Bakterien der Coli-Gruppe verschiedener Herkunft bei Schafen und Kaninchen einen Titer im homologen Serum bis 1:1000. Es

gelang ihm dies bei 16 von 18 Tieren, wobei die agglutinierende Wirkung des Serums schon nach der ersten Einspritzung aufzutreten begann. Nur bei 2 Tieren ergab sich mit 2 aus demselben Wasser stammenden Coli-Stämmen ein vollständig negatives Resultat.

Das Ergebnis der Ueberkreuzagglutinationen war kurz folgendes: Bei allen Seren bestand ein spezifisches Agglutinationsvermögen gegen den eigenen Stamm, der größte Teil der anderen Stämme wurde gar nicht beeinflußt, ein kleiner Teil nur in ganz geringem Maße agglutiniert, und nur ganz wenige zeigten mit anderen Seren eine mäßige Agglutination bis zu einem Titer, der bei weitem noch nicht an den Titer des eigenen Stammes herankam. J. schließt daraus, daß es sich bei den Bakterien der Coli-Gruppe um ganz verschiedene Arten handeln muß, obgleich sie morphologisch und kulturell einheitlich zu sein scheinen.

Fast zu gleicher Zeit erschien eine Arbeit über Coli-Agglutinaton von Rothberger (8) (1900). Er verwendete zur Immunisierung Kaninchen, eine Ziege und 1 Pferd. 16 Coli-Stämme verschiedener Herkunft, teils typische, teils atypische, suchte er sich heraus und injizierte bei Beginn der Immunisierung Aufschwemmungen abgetöteter Agarkulturen. Erst wenn der Erfolg auch bei größeren Dosen nur gering war, ging er zu lebenden Bouillonkulturen über. Steigerung der Dosen und Abstände der Injektion richtete er nach den Gewichtskurven der Tiere ein. Nach jeder Injektion nahmen die Tiere ab, und erst wenn das Gewicht wieder anstieg, wurde die nächste Spritze gegeben. Die Keime wurden subkutan eingespritzt.

Das Ergebnis der Versuche war auch bei ihm dem Jattas ähnlich: Von den 15 untersuchten Coli-Seren, die mit 40 Stämmen geprüft wurden, ergaben 6 niemals Agglutination, 9 agglutinierten ihren eigenen Stamm (bis 1:400), und von diesen wieder 6 außerdem andere Stämme bis zu einem Titer von 1:100. Dabei zeigte sich, daß in dieser Mitagglutination gar keine Einheitlichkeit bestand und es vor allem unmöglich war, die typischen von den atypischen Coli-Stämmen serologisch zu trennen.

Di-Donna (9) (1902) fand auch, daß sich sowohl mit pathogenen wie apathogenen Coli-Bakterien Tiere immunisieren lassen, daß jedoch meist nur der zur Immunisierung verwendete Stamm hoch agglutiniert wurde.

Totsuka (10) (1902) ging in seiner Versuchsanordnung ähnlich vor wie Radziewsky. Er stellte ein Immunserum mit einem Coli-Stamm aus den Fäzes eines gesunden Menschen her und untersuchte dann dessen Agglutinationsfähigkeit für andere Stämme, die aus dem Stuhl desselben Menschen, aber zu verschiedenen Zeiten gezüchtet waren. Er fand, daß von 32 in der 1. Woche gezüchteten Stämmen nur 17 agglutiniert wurden, von ebensoviel Stämmen der 2. Woche nur noch 15. Er schließt daraus auf zeitliche Schwankungen der Coli-Rezeptoren im Darm des Menschen.

Ein gleiches Ergebnis hatte Jatta (1900) bei einigen Versuchen mit Stämmen derselben Person.

Daß dagegen gleichzeitige Abimpfungen von Coli-Bakterien aus demselben Stuhl sich serologisch (3) gleich verhalten, stellten S. Wolff (1899) und Smith (4) (1899) fest, wenn auch bei letzterem die Höhe des Titers bei Abimpfungen geringer war als bei den homologen.

Als zusammenfassendes Ergebnis dieser Autoren ist also hervorzuheben, daß es zwar in den meisten Fällen gelingt, Seren mit einem verhältnismäßig hohen Titer für den zur Immunisierung verwendeten Stamm zu gewinnen, daß aber im übrigen eine Gruppierung der Coli-Stämme nach dem serologischen Verhalten nicht möglich ist.

Weitere Arbeiten über die Frage der serologischen Gruppierung der Coli-Bakterien fanden wir erst von 1910 an.

Amiritzky (11) (1910) immunisierte 5 Meerschweinchen mit Bact. coli und fand wie alle seine Vorgänger im wesentlichen nur eine Agglutination des homologen Stammes.

Das gleiche Resultat hatten Altmann und Rauch (12) (1910), die außerdem noch nachwiesen, daß monatelange Agarpassage die Rezeptoren nicht veränderte, auch dann nicht, wenn die Form der Agarkolonien variierte.

v. Loghem (13) (1919) konnte in seinen Immunisierungsversuchen nur die bestehenden Resultate der serologischen Verschiedenheit bestätigen und sucht dies durch eine große Variabilität der Coli-Bakterien zu erklären.

Erst in der neuesten Zeit sind wieder häufiger Versuche einer serologischen Gruppierung der Coli-Bakterien unternommen worden, angeregt einesteils durch Erfolge bei anderen Keimen (Pneumokokken, Meningokokken), andererseits durch die

Arbeiten von Loewenberg (14) (1924) und Meyer und Loewenberg (15) (1924) über hämolytische Coli-Arten bei Cystopyelitis.

Den beiden Forschern ist es gelungen zu zeigen, daß unter den hämolytischen Coli-Bakterien eine gewisse Rezeptorenverwandtschaft besteht, wenn auch von einer Einheitlichkeit der Rasse noch nicht gesprochen werden kann. Mit 4 von hämolytischen Stämmen hergestellten Immunseren konnten sie 24 hämolytische Coli-Stämme agglutinieren, während dies bei nicht hämolytischen Stämmen niemals gelang. Diese wurden nur von ihren homologen Seren agglutiniert, während Seren, die von ihnen hergestellt waren, auch häufig hämolytische Stämme verklebten.

Durch diese Arbeiten angeregt, hat Anselmi (16) (1924) untersucht ob sich vielleicht infektiöse und nicht infektiöse Stämme serologisch trennen lassen. Mit einem Stamme aus gesunden Fäzes und 2 Stämmen aus Eiter wurden 3 Kaninchen durch intravenöse Injektion kleiner Mengen abgetöteter Bakterien in 4—6tägigen Abständen immunisiert. Hierbei erwiesen sich die infektiösen Stämme besonders gefährlich für die Kaninchen, so daß anfangs erhebliche Tierverluste eintraten. Es wurden Titer bis zu 1 : 1600 erreicht. Mit jedem Serum wurden der eigene Stamm und 3 weitere Abimpfungen von ihm überkreuz agglutiniert und Castellanische Absättigungsversuche gemacht. Es ergab sich eine vollständige agglutinatorische Einheitlichkeit aller Tochterstämme der infektiösen Stämme mit diesem und untereinander, die besonders durch die Absättigungsversuche augenscheinlich wurde. Jeder Stamm vermochte alle Agglutinine aus dem Serum abzusättigen. Bei dem saprophytischen Stamm zeigte sich zwar eine agglutinatorische Verwandtschaft aller Tochterstämme, die Absättigungsversuche deckten jedoch eine große Rezeptorenverschiedenheit auf.

Eine dauernde agglutinatorische Spezifität besteht also nach diesen Versuchen nur bei den pathogenen Coli-Stämmen, ein Resultat, was ungefähr mit den Ergebnissen Loewenbergs bei den hämolytischen Stämmen zu vergleichen ist.

In ähnlicher Fragestellung untersuchte Czickeli (17) (1924), ob sich der „Darm-Coli" vom „Cystitis-Coli" serologisch unterscheidet. Er immunisierte Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten subkutan 1) mit Coli-Stämmen aus dem Darm gesunder Kinder, 2) mit solchen aus der Blase cystitiskranker Kinder und erreichte Titer bis 1 : 640.

Sein Ergebnis ist, daß es sehr gut agglutinable Stämme gibt, die von allen Immunseren, sei es von Cystitis-Coli, sei es von Darm-Coli stammend, agglutiniert werden, während andere in überhaupt keinem Serum agglutinieren, so daß von einer spezifischen Gruppenbildung und serologischer Unterscheidung der Darm- und Cystitisstämme nicht gesprochen werden kann.

Mit dem reichen Material von Coli-Bakterien verschiedenster Herkunft aus dem bakteriologischen Untersuchungsamt des Hygien. Instituts Leipzig begannen wir 1924 auf Anregung von Herrn Geheimrat Kruse mit erneuten Versuchen, die agglutinatorische Verschiedenheit der Coli-Bakterien in Gruppen ordnen zu können. Wir beschränkten uns zunächst nur auf Coli-Stämme aus dem Darm, zogen aber Stämme darmgesunder wie darmkranker Personen, teils von Säuglingen, teils Erwachsenen heran. Absichtlich wurden nur Stämme mit für Coli typischen Eigenschaften verwandt, worunter wir Nichtfärbbarkeit nach Gram, Beweglichkeit in frischen Bouillonkulturen, typisches Wachstum auf Endoagar, Traubenzucker- und Milchzuckervergärung und Indolbildung verstanden. Saccharosevergärung oder Hämolyse fand sich bei keinem der Stämme.

Bei der Herstellung der Immunseren kam es darauf an, einen möglichst hohen Titer bei möglichst geringem Tierverlust zu erzielen. Wir entschlossen uns zu einer ganz allmählichen und vorsichtigen Immunisierung intravenös mit lebenden Keimen. Es wurden dazu 15 Kaninchen verwendet. Die Bakterienmenge wurde in 1 ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, und wir begannen mit $^1/_{50}$ Oese. Die nächste Injektion erfolgte jedesmal nach 1 Woche und betrug die ca. doppelte Bakterienmenge ($^1/_{25}$, $^1/_{10}$, $^1/_5$, $^1/_2$, $^1/_1$ Oesen). Alle 15 Tiere blieben, abgesehen von einer Abmagerung mäßigen Grades, gesund.

In der 4. Woche, wenige Tage nach der 4. Injektion (1/5 Oese) wurde eine Probeagglutination mit dem Ausgangsstamm vorgenommen, die in den meisten Fällen bereits einen Titer von 1:1600—1:3200 ergab. Es zeigte sich, daß nach Impfung mit 1 Oese der höchstmögliche Titer erreicht war, und bei weiterer Steigerung der eingespritzten Bakterienmenge der Titer sogar manchmal zurückging.

Es gelang uns, mit dieser Methode bei 14 (von 15) Kaninchen einen für Agglutinationsversuche durchaus genügend hohen Titer zu erzielen (1 × 1 : 25600; 1 × 1:12800; 4 × 1 : 6400, 4 × 1 : 3200, 4 × 1 : 1600). Nur in einem Fall, bei einem Coli-Stamm, der aus dem Stuhl eines typhuskranken Kindes stammte, gelang es nicht, den Titer über 1 : 200 hinauszubringen. Uebrigens ließ sich ein Zusammenhang mit der Höhe des erreichten Titers und der Herkunft des Coli-Stammes nicht nachweisen.

Die 14 Kaninchen wurden, nachdem ein genügend hoher Titer erreicht war, entblutet und dem Serum 0,5proz. Karbolsäure zugesetzt. Mit den auf diese Weise gewonnenen Immunseren (s. Tab. I) wurden 23 Darmcolibakterien verschiedener Herkunft (s. Tab. II) agglutiniert.

Tabelle I.
Kaninchen-Immunseren.

No.	Titer	Impfstamm	
		Bezeichnung	Herkunft
1	1:3200	Coli 3	Stuhl eines gesunden Brustkindes
2	1:6400	„ 4	„ „ „ „
3	1:6400	„ 5	„ „ „ „
4	1:12800	„ III_{88}	„ „ erwachsenen Typhusbazillenträgers.
5	1:6400	„ S	„ „ gesunden Erwachsenen.
6	1:25600	„ III_{73}	„ „ dyspeptischen Erwachsenen.
7	1:3200	„ 6	„ „ gesunden Brustkindes.
8	1:1600	„ III_{76}	„ „ ruhrkranken Kindes.
9	1:1600	„ T	„ „ gesunden Erwachsenen.
10	1:6400	„ III_{81}	„ „ dyspeptischen Erwachsenen.
11	1:3200	„ J	„ „ gesunden Erwachsenen.
12	1:1600	„ H	„ „ „ „
13	1:1600	„ K 1	„ „ ruhrkranken Säuglings.
14	1:3200	„ K 8	Duodenum eines Säuglings mit aliment. Intoxik.

Tabelle II.
Coli-Stämme.

	Herkunft	
Coli 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 13	Gesundes Brustkind	(Stuhl)
„ S, T, J, H	Gesunder Erwachsener	„
„ III_{73}	Dyspepsie „	„
„ III_{76}	Ruhr, Kind	„
„ III_{81}	Dyspepsie Erwachsener	„
„ III_{88}	Typhusbazillenträger Erwachsener	„
„ K 1	Ruhr, Säugling	„
„ K 2	Typhus, Säugling	„
„ K 4	Aliment. Intox, Säugling	„
„ K 5	Ruhr, Säugling	„
„ K 6	„	„
„ K 7	„	„
„ K 8	Aliment. Intox., Säugling	(Duodenum).

Das Ergebnis der Agglutination zeigt Tabelle III, S. 228—231.

Man sieht aus den Tabellen, daß verschiedene Seren außer ihrem Ausgangsstamm noch andere Stämme bis in höhere Verdünnungen agglutinieren. Dies ist am meisten bei dem Serum 6 (Coli III_{73}) der Fall, das bei einem Titer von 12800 noch bei den Stämmen Coli 4, Coli 5, Coli J und Coli K_6 Agglutination bis zu einer Verdünnung von 1:800 aufweist, während bei allen anderen Stämmen höchstens eine Mitagglutination bis 1:100 besteht. Soweit von den eben genannten Stämmen Seren hergestellt wurden (Ser. 2, Ser. 3, Ser. 11), zeigt jedes auch wieder Agglutination mit dem Stamm III_{73} und den anderen aufgeführten Stämmen außer mit dem Stamm 4, worüber weiter unten noch gesprochen werden wird. Allerdings ist die Agglutination immer weit schwächer für alle übrigen verwandten Stämme als für den Ausgangsstamm. Man kann also wohl sagen, daß diese 5 Stämme eine Rezeptorenverwandtschaft besitzen. Zur Lösung der Frage jedoch, ob es sich um eine echte Rasse handelt, sind Absättigungsversuche (n. Castellani) unumgänglich. Wir haben sie im Serum 6 (Coli III_{73}) vorgenommen.

Wie die Tab. VI, S. 232 zeigt, gelingt es bei Absättigung des Ser. 6 mit Coli III_{73}, zunächst nicht nur alle Agglutinine für Coli III_{73}, sondern auch für 4, 5, J und K 6 herauszuholen, was ja der allgemeinen Regel entspricht, also vorauszusehen war. Wird weiterhin das Ser. 6 mit Coli 5, Coli J und Coli K 6 abgesättigt, so werden durch jeden der 3 Stämme auch die Agglutinine für die beiden anderen entfernt. Dies spricht aber nur für die Gleichheit der Rezeptoren der 3 Stämme gegenüber dem Serum 6. Daß ihre Hauptrezeptoren noch verschieden sind, zeigt ihr gegenseitiges Verhalten in ihren eigenen Seren. Sie agglutinieren sich gegenseitig nur unvollkommen. Die Absättigung des Ser. 6 mit diesen 3 Stämmen gelingt nicht für Coli III_{73} und Coli 4, wodurch die Verschiedenheit ihrer Rezeptoren gegenüber denen von III_{73} und Coli 4 bewiesen ist. Bei Absättigung mit Coli 4 zeigt sich aber, daß dieser Stamm aus dem Ser. 6 noch mehr Agglutinine zu entfernen imstande ist, wie die Stämme 5, J, K 6, nämlich außer denjenigen für diese 3 Stämme noch die von Coli 4, daß aber für Coli III_{73} immer noch ein Teil vorhanden bleibt, der nur mit dem homologen Stamm III_{73} abgesättigt werden kann.

Es ergibt sich schematisch das Bild, daß durch Coli 4 $^2/_3$ und durch Coli 5, J oder K 6 $^1/_3$ der im Ser. 6 enthaltenen Agglutinine abgesättigt werden. Man kann also wohl sagen, daß die durch Ser. 6 dargestellte Gruppe eine Sammelgruppe von Stämmen verschiedene Rezeptoren vom Typus III_{73}, 4, 5, J, K 6 darstellt, oder mit andern Worten, daß diese 5 Stämme zwar nicht identisch sind, d. h. eine „Rasse" bilden, sondern nur eine Rezeptorenverwandtschaft besitzen, also einer „Verwandtschaftsgruppe A" angehören.

Die Rezeptoren der Seren 1 (Coli 3), 4 (Coli III_{88}), 5 (Coli S), 8 (Coli III_{76}), 9 (Coli T), 13 (Coli K 1) zeigen auch eine gewisse Rezeptorengemeinschaft mit den Stämmen der Gruppe A (bes. Ser. 4), doch werden die zu diesen Seren gehörigen Stämme von den Seren der Gruppe A weniger hoch agglutiniert, so daß ihre Verwandtschaft zur Gruppe A eine entferntere ist.

Ein weiteres Serum, das außer dem Ausgangsstamm noch andere Stämme agglutiniert, ist das Ser. 7, das mit Coli 6 hergestellt ist und einen Titer von 1:3200 besitzt. Coli 11 und Coli 13 werden von ihm bis zur Verdünnung 1:400 bzw. 1:800 agglutiniert. Wenn diese

Tabelle

Serum	Verdünnung	Coli 3	Coli 4	Coli 5	Coli 6	Coli 9	Coli 10	Coli 11	Coli 13	Coli S	Coli T	Coli J
Ser. 1 (Coli 3)	1:50	++++	(+)	++	—	(+)	—	—	(+)	(+)	(+)	++
	1:100	+++	(+)	+	.	—	.	.	—	—	—	+
	1:200	++	—	(+)	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:400	+	.	—	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:800	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:1600	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—
	1:3200	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 2 (Coli 4)	1:50	+	+++	++	(+)	(+)	++	(+)	(+)	—	—	—
	1:100	(+)	+++	+	—	—	+	(+)	(+)	.	.	.
	1:200	(+)	+++	(+)	.	.	(+)	—	—	.	.	.
	1:400	—	++	(+)	.	.	(+)	.	.	.	.	.
	1:800	.	++	—	.	.	—	.	.	.	.	.
	1:1600	.	++	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:3200	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 3 (Coli 5)	1:50	—	—	+++	—	—	(+)	(+)	—	—	(+)	+++
	1:100	.	.	+++	.	.	(+)	—	.	.	(+)	++
	1:200	.	.	++	.	.	—	.	.	.	—	++
	1:400	.	.	++	.	.	.	.	.	.	.	+
	1:800	.	.	++	.	.	.	.	.	.	.	+
	1:1600	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:3200	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	—
	1:6400	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 4 (Coli III_{89})	1:50	(+)	(+)	++	(+)	+	+	—	—	—	(+)	+++
	1:100	—	—	+	—	+	(+)	.	.	.	—	++
	1:200	.	.	(+)	.	(+)	—	.	.	.	.	+
	1:400	.	.	(+)	.	—	.	.	.	.	.	(+)
	1:800	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	—
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 5 (Coli S)	1:50	(+)	—	++	(+)	+	(+)	(+)	(+)	++++	++	+++
	1:100	—	.	++	—	—	—	—	—	++++	++	++
	1:200	.	.	+	.	.	.		.	+++	(+)	+
	1:400	.	.	+	.	.	.	.	.	++	(+)	(+)
	1:800	.	.	—	.	.	.	.	.	+	—	—
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	—	.
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	—	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.
Ser. 6 (Coli III_{73})	1:50	—	++	+++	—	+	—	—	—	—	—	+++
	1:100	.	++	++	.	(+)	.	.	.	.	.	++
	1:200	.	+	+	.	(+)	.	.	.	.	.	+
	1:400	.	(+)	(+)	.	—	.	.	.	.	.	(+)
	1:800	.	(+)	(+)	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:1600	.	—	—	.	.	.	.	.	.	.	—
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 7 (Coli 6)	1:50	(+)	—	(+)	++++	—	(+)	+++	++++	—	++	(+)
	1:100	—	.	—	++++	.	—	+++	++++	.	++	(+)
	1:200	.	.	.	+++	.	.	++	++	.	++	.
	1:400	.	.	.	++	.	.	(+)	(+)	.	+	.
	1:800	.	.	.	+	.	.	—	—	.	—	.
	1:1600	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.
	1:3200	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

III.

Coli H	Coli III_{73}	Coli III_{87}	Coli III_{76}	Coli III_{88}	Coli K 1	Coli K 2	Coli K 4	Coli K 5	Coli K 6	Coli K 7	Coli K 8	
(+)	(+)	—	—	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	(verwandt mit Gruppe A)
—	(+)	.	.	(+)	—	.	.	.	.	.	.	
.	—	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
—	+++	—	(+)	++	(+)	—	—	—	—	—	—	Gruppe A
.	+	.	(+)	(+)	(+)	.	.	.	.	.	.	
.	(+)	.	—	—	—	.	.	.	.	.	.	
.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
+	++	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	—	+++	—	—	Gruppe A
—	+	+	—	—	—	—	—	.	++	.	.	
.	+	(+)	.	.	.	.	.	.	++	.	.	
.	(+)	—	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.	
.	—	.	.	.	.	.	.	.	—	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
(+)	++	—	(+)	++++	(+)	(+)	—	(+)	++	—	—	Gruppe A
(+)	+	.	+	++++	—	(+)	.	.	+	.	.	
—	(+)	.	+	+++	.	—	.	.	(+)	.	.	
.	(+)	.	(+)	++	.	.	.	.	(+)	.	.	
.	—	.	—	++	.	.	.	.	—	.	.	
.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	
+	+	(+)	(+)	—	(+)	(+)	—	—	++	—	(+)	(verwandt mit Gruppe A)
(+)	(+)	(+)	(+)	.	.	(+)	.	.	+	.	—	
(+)	(+)	—	.	.	.	(+)	.	.	+	.	.	
—	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
(+)	++++	—	(+)	(+)	—	(+)	—	—	++	—	—	Gruppe A
.	+++	.	—	(+)	.	—	.	.	+	.	.	
.	+++	.	.	(+)	.	.	.	.	(+)	.	.	
.	++	.	.	—	.	.	.	.	(+)	.	.	
.	+	.	.	.	.	.	.	.	—	.	.	
.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
—	(+)	—	—	—	—	(+)		—	—	—	—	Gruppe B
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	

		Coli 3	Coli 4	Coli 5	Coli 6	Coli 9	Coli 10	Coli 11	Coli 13	Coli S	Coli T	Coli J
Ser. 8 (Coli III_{76})	1:50	—	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	++
	1:100	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	++
	1:200	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—
	1:800	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 9 (Coli T)	1:50	—	(+)	++	—	—	(+)	—	(+)	++	+++	+++
	1:100	.	(+)	+	.	.	—	.	—	+	+++	++
	1:200	.	—	—	.	.	.	.	.	(+)	++	+
	1:400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	(+)
	1:800	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	—
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	.
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 10 (Coli III_{81})	1:50	—	+	—	—	+	(+)	(+)	—	—	(+)	—
	1:100	.	(+)	.	.	(+)	—	—	.	.	—	.
	1:200	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:800	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 11 (Coli J)	1:50	(+)	—	+++	—	(+)	(+)	(+)	—	(+)	+	++++
	1:100	—	.	++	.	—	—	—	.	—	+	+++
	1:200	.	.	+	.	.	.	.	.	.	(+)	++
	1:400	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	—	++
	1:800	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	+
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—
Ser. 12 (Coli H)	1:50	—	(+)	(+)	—	—	++	(+)	(+)	—	—	(+)
	1:100	.	—	—		.	+	—	—	.	.	(+)
	1:200	.	.	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.
	1:400	.	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.
	1:800	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 13 (Coli K 1)	1:50	—	—	++	—	—	(+)	—	—	(+)	(+)	++
	1:100	.	.	+	.	.	—	.	.	—	(+)	+
	1:200	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	—	(+)
	1:400	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	(+)
	1:800	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ser. 14 (Coli K 8)	1:50	(+)	—	++	—	—	—	—	—	—	(+)	+
	1:100	—	—	+	—	—	—	—	—	.	—	(+)
	1:200	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	—
	1:400	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:800	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:1600	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:3200	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1:6400	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Coli H	Coli III_{73}	Coli III_{81}	Coli III_{76}	Coli III_{88}	Coli K 1	Coli K 2	Coli K 4	Coli K 5	Coli K 6	Coli K 7	Coli K 8	
—	++	(+)	++++	(+)	(+)	(+)	(+)	—	++	—	—	(verwandt mit Gruppe A.)
.	+	—	+++	—	—	(+)	—	.	++	.	.	
.	(+)	.	++	.	.	—	.	.	+	.	.	
.	.	.	++	.	.	.	.	.	(+)	.	.	
.	.	.	+	.	.	.	.	.	—	.	.	
.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
(+)	++	(+)	(+)	+	(+)	(+)	—	.	++	—	(+)	(verwandt mit Gruppe A.)
(+)	++	(+)	—	(+)	(+)	(+)	.	.	+	.	.	
—	+	—	.	—	(+)	(+)	.	.	(+)	.	.	
.	(+)	.	.	.	—	—	.	—	—	.	.	
.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
—	—	++++	—	—	(+)	—	—	—	(+)	—	—	—
.	.	++++	.	.	—	.	.	.	—	.	.	
.	.	+++	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	+++	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	++	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
(+)	++	(+)	—	(+)	(+)	+	(+)	(+)	++	(+)	(+)	Gruppe A
(+)	+	—	.	(+)	—	(+)	(+)	—	+	—	—	
—	(+)	.	.	—	.	—	—	.	+	.	.	
.	—	.	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
+++	—	—	(+)	(+)	++	(+)	—	—	(+)	—	+++	**Gruppe C**
++	.	.	—	(+)	+	—	.	.	(+)	.	++	
+	.	.	.	—	(+)	.	.	.	—	.	+	
(+)	.	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	(+)	
(+)	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	(+)	
(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	
—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
+	+	+	(+)	(+)	+++	—	—	—	(+)	(+)	—	(verwandt mit Gruppe A.)
(+)	.	(+)	(+)	(+)	++	.	.	.	(+)	—	.	
.	.	.	—	—	++	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
+++	—	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	—	+++	—	+++	Gruppe C
++	.	—	—	—	—	—	—	.	—	.	+++	
++	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+++	
++	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	++	
+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	
(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	
(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	
—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	

Tabelle IV.

	Ser. 6 (Coli III_{78})					
	Ohne Absättigung	abgesättigt mit:				
		Coli III_{78}	Coli J	Coli 5	Coli 4	Coli K_6
Coli II_{73}	++++	−	++	+++	++	++
	+++	−	++	++	++	++
	+++	−	++	++	+	++
	++	−	+	+	(+)	+
	+	−	(+)	(+)	(+)	(+)
	(+)	−	−	−	−	−
	(+)	−	−	−	−	−
	(+)	−	−	−	−	−
Coli J	+++	−	−	−	−	−
	++	−	−	−	−	−
	+	−	−	−	−	−
	(+)	−	−	−	−	−
	(+)	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
Coli 5	+++	−	−	−	−	−
	++	−	−	−	−	−
	+	−	−	−	−	−
	(+)	−	−	−	−	−
	(+)	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
Coli 4	++	−	++	++	−	++
	++	−	++	++	−	++
	+	−	+	+	−	+
	(+)	−	(+)	(+)	−	(+)
	(+)	−	(+)	(+)	−	−
	−	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
Coli K_6	++	−	−	−	−	−
	+	−	−	−	−	−
	+	−	−	−	−	−
	(+)	−	−	−	−	−
	(+)	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−
	−	−	−	−	−	−

Tabelle V.

	Ser 7 (Coli 6)				
	Ohne Absättigung	abgesättigt mit:			
		Coli 6	Coli 11	Coli 13	
Coli 6	++++	−	−	−	1:50
	++++	−	−	−	1:100
	+++	−	−	−	1:200
	++	−	−	−	1:400
	+	−	−	−	1:800
	(+)	−	−	−	1:1600
	(+)	−	−	−	1:3200
	−	−	−	−	1:6400
Coli 11	+++	−	−	−	1:50
	+++	−	−	−	1:100
	++	−	−	−	1:200
	(+)	−	−	−	1:400
	−	−	−	−	1:800
	−	−	−	−	1:1600
	−	−	−	−	1:3200
	−	−	−	−	1:6400
Coli 13	++++	−	−	−	1:50
	++++	−	−	−	1:100
	+++	−	−	−	1:200
	++	−	−	−	1:400
	(+)	−	−	−	1:800
	−	−	−	−	1:1600
	−	−	−	−	1:3200
	−	−	−	−	1:6400

Titer auch nicht allzu hoch sind, so zeigt doch die in diesem Falle besonders starke Agglutination, die bei keinem anderen Stamm gefunden wurde, daß die Coli-Stämme 6, 11 und 13 sich besonders nahestehen. Die Absättigung des Ser. 7 (Coli 6) mit den Stämmen 6, 11 und 13 ergab hier ein ganz einheitliches Bild (s. Tab. V). Jeder Stamm vermochte die Agglutinine auch für den anderen vollständig zu entfernen.

was die Identität der Rezeptoren beweist. Wir können also sagen, daß die drei genannten Stämme nicht nur einer Verwandtschaftsgruppe, sondern einer „Rasse B“ angehören.

Eine dritte Gruppe bilden die Stämme Coli H und Koli K8, die jeder sowohl vom Ser. 12 (Coli H) als auch Ser. 14 (Coli K8) bis in höhere Verdünnungen agglutiniert werden. Die Absättigungsversuche, auf deren tabellarische Wiedergabe wegen ihrer Einheitlichkeit verzichtet werden kann, zeigten auch hier eine vollständige Rezeptorenübereinstimmung beider Stämme, so daß diese als „Rasse C“ vereinigt werden können.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß von den 23 untersuchten Darm-Coli-Stämmen 5 einer „Verwandtschaftsgruppe A“ (Ser. 6), 3 einer „Rasse B“ (Ser. 7), 2 einer „Rasse C“ (Ser. 12), angehören. 6 weitere Stämme zeigen außerdem eine entferntere Verwandtschaft zur Gruppe A.

Verwandtschaftsgruppe A	Col. III_{73}, 4, 5, J, K_8 (Col. 3, III_{88}, III_{76}, 8, K_6)
Gruppe (Rasse) B	Col. 6, 11, 13
„ „ C	Col. H, K_8.

Die übrigen Stämme werden außer von ihren eigenen Immunseren von keinem anderen agglutiniert, gehören also keiner der drei Gruppen an, was natürlich nicht ausschließt, daß bei Herstellung weiterer Seren sie sich in noch weitere Gruppen einordnen lassen würden.

Die Spezifität der Gruppenagglutination hat sich über 1 Jahr in den steril im Eisschrank aufbewahrten Seren erhalten und war mit denselben Stämmen auch nach häufiger Agarpassage immer wieder nachweisbar.

Interessant und wichtig erscheint es uns, daß die Zugehörigkeit eines Stammes zu einer der Gruppen ganz unabhängig von seiner Herkunft ist. So zeigt z. B. der Stamm K8, der aus dem Dünndarm eines an alimentärer Intoxikation gestorbenen Säuglings herrührt, eine Rezeptorengleichheit mit dem Stamm K8, der aus dem Stuhl eines gesundenen Erwachsenen gezüchtet ist. Andererseits gehört der aus einem gesunden Brustmilchstuhl gewonnene Keim Coli 5 in die gleiche Gruppe mit Coli III_{73} aus dem Stuhl eines schwer Ruhrkranken. Eine gewisse Einheitlichkeit in der Herkunft zeigen nur die Stämme der Rasse B, die alle aus Stühlen gesunder Brustkinder gezüchtet sind.

Wenn diese Versuche auch nur einen Anfang für die Erforschung der Möglichkeit einer serologischen Gruppierung der großen und klinisch so vielseitigen Gruppe der Coli-Bakterien bedeuten, so sind sie doch geeignet zu zeigen, daß dies auch für die nichthämolytischen Colistämme doch nicht so aussichtslos ist, und es nach weiteren in großen Reihen angestellten Versuchen vielleicht doch gelingen wird, eine begrenzte Anzahl von Coli-Gruppen herauszuarbeiten, in die sich zwar nicht alle, aber sehr viele Stämme einordnen lassen.

Der praktische, klinisch wichtige Wert dieser Arbeiten bestände dann darin, die Sicherheit der therapeutischen Wirkung polyvalenter Coli-Vakzinen dadurch zu erhöhen, daß von jeder Gruppe mindestens ein Stamm bei ihrer Herstellung verwendet wird.

Literatur (zeitlich geordnet).

1) Pfaundler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 23. 1898. — 2) Ders., Münch. med. Wochenschr. 1899. Nr. 157. — 3) Wolff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I.

Orig. Bd. 25. 1899. — 4) Smith, Ibid. Bd. 25. 1899. — 5) Radziewsky, Ibid. Bd. 26. 1899. — 6) Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 34. 1900. — 7) Jatta, Ibid. Bd. 33. 1900. — 8) Rothberger, Ibid. Bd. 34. 1900. — 9) Di-Donna, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 34. 1902. — 10) Totsuka, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 45. 1902. — 11) Amiridsky, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. 1910. — 12) Altmann u. Rauch, Ibid. Bd. 7. 1910. — 13) van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. — 14) Loewenberg, Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. Bd. 41. 1924. — 15) Meyer u. Loewenberg, Klin. Wochenschr. 1924. Nr. 19. — 16) Anselmi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. — 17) Czickeli, Ibid. Bd. 92. 1924.

Der Weg zur Frühdiagnose der Tuberkulose.

[Aus dem mikrobiologischen Universitätsinstut in Brünn (Vorstand: Prof. Dr. J. Kabelík).]

Von Sanitätsoberst Dr. **G. Gellner.**

I.

Die Probe, über die hier berichtet werden soll, ist aus der engsten Zusammenarbeit eines Serologen und eines Internisten hervorgegangen. Sie ist ein Analogon der Hecht-Levaditischen Aktivmethode des serologischen Luesnachweises in Weinberg-Rubinsteinscher Modifikation mit dem Unterschied, daß das luetische Antigen durch das Antigen von Boquet-Nègre, dessen vorzügliche Eigenschaften auch durch die vergleichenden, in unserem Institut ausgeführten Versuche von Vl. Lorenc dargetan worden sind, und daß der Ablauf der 1. Reaktionsphase nicht im Thermostaten bei 37° in 1 Std., sondern in 18 Std. im Eisschrank bei 4° C stattfindet. Die Anordnung des Versuches in der ursprünglichen Form zeigt folgendes Schema:

Krankenserum	ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Physiol. Kochsalzlösung	„	0,4	0,4	0,4	.	.	.	.	.	.
Antigen Bordet-Ruelens 1:80	„	.	.		0,4	0,4	0,4	.	.	.
Antigen Boquet-Nègre 1:40	„	.	.		.	.	.	0,4	0,4	0,4

18 Std. im Eisschrank (4° C)

2proz. Suspension von Schaferythrozyten	ccm	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0

20 Min. im Thermostaten (37° C)

An einer größeren Versuchsreihe von 114 Kranken wurde die Reaktion zuerst Ende 1923 ausgeprobt, und zwar zeigten:

	Positive Reaktion	Negative Reaktion
1) Von 27 Lungentuberkulösen mit bazillenhaltigem Sputum	18	9
2) Von 15 Lungentuberkulösen mit bazillenfreiem Sputum	15	.
3) Von 23 Tuberkuloseverdächtigen	15	8
4) Von 49 anderweitig Kranken	4	45

Evident falsche negative Resultate gab es unter diesen 114 Proben im ganzen 13 (= 11,4 Proz.), dabei verhältnismäßig am meisten (33 Proz.) in der Gruppe 1), deren Fälle aber in diagnostischer Beziehung an sich schon, wie klinisch so bakteriologisch, stets ganz offenkundig sind. Da wir praktische Ziele mit unserer Reaktion verfolgten, d. h. in das Dunkel des symptomarmen Anfangsstadiums der tuberkulösen Lungenerkrankung hineinleuchten wollten, haben wir die diagnostische Unverläßlichkeit der Probe in Fällen weit fortgeschrittener Phthise nicht als Manko gebucht, weil in dem Stadium, wo die Tuberkulose von augenfälligen, sicheren Symptomen überquillt, der zeitraubende serologische Nachweis nicht mehr benötigt wird, außer dort, wo es sich um eine Prognosenstellung handelt: Bei seronegativen Bazillenausscheidern pflegt das Ende oft nahe zu sein. Der Prüfstein für die praktische Brauchbarkeit der Probe sind vielmehr die folgenden drei Gruppen. In dieser Beziehung läßt die Gruppe 2) nichts zu wünschen übrig, in der durchweg positive Resultate zu verzeichnen sind. Die Verläßlichkeit der Reaktion in den Fällen der Gruppe 3) läßt sich nicht direkt, sondern nur indirekt aus dem Ergebnis der serologischen Untersuchung der Gruppen 2) und 4) erschließen.

In der Gruppe 4) gab es unter 49 Reaktionen 4 unspezifische. In einem Fall konnte das falsche Resultat von der Lues bedingt sein. Bei den restlichen 3 Fällen lag aber keine Syphilis vor. Im ganzen waren von den geprüften 114 Seren 17 Wa+, und zwar von den nichttuberkulösen 11, von den tuberkulösen 6. Von den ersteren 11 reagierte mit dem Tbc-Antigen 1 (der früher schon genannte Fall), von den letzteren 6: alle; d. h.: beim Ablauf der Reaktion im Eisschrank geben luetische Sera mit dem Antigen *Boquet-Nègre* (BN) dann einen positiven Ausfall, wenn gleichzeitig auch eine tuberkulöse Erkrankung vorliegt. Daß im Serum nichttuberkulöser Luetiker eine Verbindung des Luesambozeptors mit dem Antigen BN bei einer Temperatur von + 4° C in der Regel ausbleibt, bewiesen uns 3 ad hoc untersuchte, sicher tuberkulosefreie unbehandelte Sekundärsyphilitiker. Während ihr Serum *beim Ablauf der Reaktion im Thermostaten auch mit dem Tbc-Antigen reagierte, trat im Eisschrank diese unspezifische Reaktion in keinem Fall ein.* Auf Grund dieser Feststellungen mußten wir annehmen, daß auch bei dem einen Wa + Patienten die unspezifische Reaktion nicht in luetischen Veränderungen des Serums, sondern, ebenso wie bei den 3 restlichen, in anderen unbekannten Vorgängen bedingt sein dürfte.

Da die falschen Resultate in unserem Material *durchwegs Greise betrafen*, war der Gedanke naheliegend, daß an dem Ausfall der Probe vielleicht die Altersveränderung des Serums (*Lumière*, *Schade* u. a.) Schuld tragen, die einen Teil der von *V. Růžička* mit dem Namen „Protoplasmahysterese" bezeichneten allgemeinen Dyskolloidität der Gewebe bilden. Dieser hysteretische Verdichtungsprozeß kann nach *Růžička* angeblich mittels seiner Flokulationsprobe (0,2 ccm Serum, 1 ccm H_2O, 0,2 ccm *Alkohol*. abs.) nachgewiesen werden. Es könnte also auch die methylalkoholische Basis allein des Antigens BN, selbst in der gebrauchten Verdünnung von 1:40, durch Hervorbringung einer hysteretischen (submikroskopischen) Ausflockung des Serums und Adsorption des Komplements an das Flokulat eine Hemmung der Hämolyse hervorbringen. In der Tat zeigte es sich auch, daß Methylalkohol allein das kolloidale Gleich-

gewicht der 4 Greisensera aufhob. Der Sache wurde sofort weiter nachgegangen. Die interne Abteilung des hiesigen Landeskrankenhauses beherbergte gerade 9 senil-marantische Kranke, die wir uns zur serologischen Untersuchung erbaten. Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle:

Fortlauf. Zahl	Alter	Diagnose der internen Abteilung	Phys. NaCl	Lues-antigen	Methylalkohol 1:40	Antigen BN
1	74 Jahre	Emphys. pulm.	0 0 0	3 3 3	0 0 0	0 0 0
2	68 „	Emphys. pulm.	3 0 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0
3	62 „	Haemorrhag. cerebri	0 0 0	± 0 0	0 0 0	0 0 0
4	68 „	Arterioscler. Ulc. ventric.?	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
5	66 „	Alcoholismus chron.	2 0 0	2 0 0	2 + 0	2 + 0
6	62 „	Tabes alcoholica	2 0 0	2 0 0	2 0 0	2 0 0
7	65 „	Arterioscler. univ.	+ 0 0	+ 0 0	+ 0 0	+ 0 0
8	79 „	Emphys. pulm.	0 0 0	0 0 0	0 0 0	+ 0 0
9	64 „	Arterioscler. Ulc. ventric.	0 0 0	3 3 3	+ 0 0	+ 0 0

Anmerkung: 0 bedeutet vollkommene Hämolyse, 3 (= +++) bedeutet vollkommene Hemmung der Hämolyse.

Eine hysteretische Reaktion fand sich also nur bei 3 Fällen vor, auch da nicht ganz rein ausgeprägt, und zwar eine mehr weniger physiologische im Falle 5, eine luetisch bedingte Hysteresis praecox bei Fall 2 und 9. Von einer Regelmäßigkeit der Ultraausflockung bei Greisenseris durch 1:40 verdünnten Methylalkohol war jedenfalls wenig zu bemerken. Die Ursache der unspezifischen Reaktionen in den 4 Fällen der ersten Versuchsserie konnte also nicht allein in Altersveränderungen des Serums, sondern mußte noch in anderen allgemeineren Umständen beruhen, die aber möglicherweise die Reaktion nicht stören würden, wenn das mitreagierende Antigen nicht alkoholhältig wäre.

Die Entfernung des Methylalkohols durch Abdampfen und nachherige Auflösung des Trockenrückstandes in phys. Kochsalzlösung in der Art, wie wir das beim luetischen Antigen Bordet-Ruelens machen, ist für das Antigen BN nicht praktikabel, weil es bei dieser Prozedur einen Großteil seiner antigenen Eigenschaften einbüßt. G. Blumen-

thal (Dtsch. med. Woch. 1924. S. 673) hat nun ein wäßriges Antigen dargestellt, indem er die Vorbehandlung der Tbc-Bazillen mit Azeton beibehielt, daran aber statt mit Methylalkohol eine Extraktion mit Wasser anschloß. Da uns ein kleines Quantum dieses Antigens gütigst übermittelt wurde, waren wir in der Lage, die Ergebnisse der Reaktionen bei paralleler Anwendung des Antigens BN und des Antigens Blumenthal zu vergleichen. Der Versuch hatte folgendes Ergebnis:

Fortlauf. Zahl	Diagnose	Phys. NaCl-Lösung	Luetisch. Antigen	Methyl-alkohol	Antigen BN	Antigen Blumen-thal
1	Asthma bronch.	±	±	±	+	0
		0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
2	Schleimhautlupus	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
3	Coxitis tbc.	0	∓	±	2	2
		0	0	0	+	+
		0	0	0	0	±
4	Apicitis obsol.	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
5	Tbc. pulm. I sine bac.	0	0	+	2	+
		0	0	0	0	±
		0	0	0	0	0
6	Tbc. pulm. II bac. +	0	0	0	+	2
		0	0	0	0	+
		0	0	0	0	±
7	Tbc. pulm. I bac. —	0	0	+	2	2
		0	0	±	+	+
		0	0	0	0	±
8	Kolitis chron.	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
9	Sine morbo	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
10	Sine morbo	0	0	0	0	± [1])
		0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0

Obzwar, wie man sieht, die Resultate der Parallelversuche fast übereinstimmten, blieben wir schließlich doch dem Antigen BN treu, da eigene Erfahrungen und fremde Angaben uns lehrten, daß die wäßrigen Antigene weniger stabil sind, mit der Zeit sich abschwächen und, das Wassermannsche mehr als die übrigen, bei niederer Temperatur minder reaktiv sind. Um uns aber zu sichern, ergänzten wir das ursprüngliche Versuchsschema durch 3 Röhrchen mit Methylalkohol 1:40 allein und verschafften uns so ein Korrektiv für das komplexe Antigen BN.

Daß positive Fehlschläge auch in Fehlern der Technik, unreinen Behelfen, altem Serum, mangelhafter Vorbereitung des Untersuchten (unerläßlich ist mehrstündige Nahrungskarenz und körperliche Ruhe der

1) Nach 14 Tagen mit demselben Resultat wiederholt.

Spender vor der Blutentnahme) begründet sein können, braucht nicht besonders erwähnt zu werden. Wenn man reinlich genau arbeitet, sind im eigentlichen Betätigungsfelde der Probe unkontrollierbar unspezifische Reaktionen wenig zu befürchten. Unsicherer in der Verläßlichkeit sind jedenfalls die negativen Ausfälle, auch wenn man von den Phthisen, die zur weitgehenden lokalen und allgemeinen Destruktion geführt haben, absieht. Die entscheidende untere Empfindlichkeitsgrenze der Reaktion haben wir zwar an sicheren Frühtuberkulosefällen, die sich als solche meistens durch eine initiale Hämoptoë verraten haben, austitriert und sind sogar ein wenig darüber hinausgegangen in Würdigung dessen, daß der Periode der frühesten Manifestierung der Krankheit ein Stadium der ganz okkulten Entwicklung vorangeht. Es bedurfte einer langen genau abwägenden Beobachtung, ehe wir die optimalen Dosen der Reagentien unserer Probe herausgefunden haben. Trotzdem blieben wir uns bewußt, daß die empirisch festgestellten Grenzwerte willkürliche und darum unsichere sind. Vor dem Ueberschießen des Zieles haben wir uns gehütet, ob wir aber nicht viel zu früh gebremst haben, war eine andere Frage. Es stand für uns deshalb vom Anbeginn fest, daß eine Kontrollierung der negativen Reaktionen hinsichtlich ihrer Verläßlichkeit ebenso wichtig, ja mit Rücksicht auf das gesteckte Ziel, die Diagnose der beginnenden Tuberkulose serologisch zu ermöglichen, noch wichtiger ist, als die Ueberprüfung der positiven Resultate hinsichtlich ihrer Spezifität. Diese Sicherung glaubt Kabelík in der Plasmareaktion gefunden zu haben.

In Anbetracht der Zusammenhänge zwischen den Globulinen des Blutes und den komplementbindenden Stoffen konnte vorausgesetzt werden, daß das Plasma wegen seines Plus an Fibrinogen für die Komplementbindungsreaktion geeigneter sein dürfte, als das defibrinierte Plasma, das Serum, vorausgesetzt, daß die dem Blute zugesetzte gerinnungswidrige Substanz das Komplement nicht schädigt. Weit besser als Natrium aceticum und Natrium oxalicum kommt dieser Bedingung das Hirudin nahe, das fertig von E. Sachsse & Co. in Leipzig bezogen werden, aber auch leicht und billig in eigener Regie aus den Köpfchen der offizinellen Blutegel bereitet werden kann. (Die Gewinnung des Hirudins ist in Eulenburgs Enzyklopädie. 3. Aufl. Bd. 24. S. 417 beschrieben.) Wenn man davon ein Quantum, das zur Flüssigerhaltung von 3 ccm Blut hinreicht, an den Boden eines kleinen Röhrchens zur Blutentnahme antrocknen läßt, hat man das selbstbereitete Hirudin nicht nur in eine haltbare, sondern auch in eine zum Gebrauch bequeme und handliche Form gebracht.

Die Eignung des Hirudinplasmas für die Komplementbindungsreaktion wurde aus guten Gründen nicht an Phthisikern, sondern an Luetikern geprüft. Hier merkt man tatsächlich nichts von einer Einbuße an Komplement durch den Hirudinzusatz, und man erhält im empfindlicheren Plasma positive Resultate noch dort, wo die Seroreaktion gewöhnlich bereits versagt (Primärstadium vor der 6. Woche. Metalues). Im tuberkulösen Hirudinplasma jedoch merkt man bei unserer Eisschrankmethode die spontane oder durch den Hirudinzusatz verursachte Einbuße an Komplement oft sehr, und es kommt zu Hemmungen der Hämolyse, wo weder der augenblickliche Zustand noch eine über viele Monate sich erstreckende Beobachtung Zeichen einer glimmenden Tuberkulose erkennen läßt. Während also bei der Eisschrankmethode die positive Tbc-Plasma-Reaktion, was Spezifität be-

trifft, der Seroreaktion nicht gleichkommt, hat der negative Ausfall der Plasmareaktion bei 4° C, gerade wegen der Einbuße an Komplement und der höheren Empfindlichkeit des Plasmas, desto größere Beweiskraft.

Wenn man eine Erklärung sucht, warum bei Lues die Einbuße an Komplement bedeutungslos ist, bei Tuberkulose aber nicht, hätte man erstens zu berücksichtigen, daß das Serum gesunder Erwachsener keinen Luesambozeptor, aber fast immer komplementbindende tuberkulöse Reagine — je nach dem Grade des tuberkulösen Primärinfektes im Kindesalter und der Reaktivität des infizierten Organismus mehr-weniger reichlich — enthält, die eine gewisse Menge des gegebenen Komplements aufbrauchen. Zweitens hätte man sich schematisierend vorzustellen, daß die Bindungsavidität des tuberkulösen Ambozeptors gegenüber seinem Antigen und dem Komplement an und für sich und im Verhältnis zum Luesambozeptor schwach ist, so daß die eingetretene Verbindung nicht nur bei Gegenwart eines stärkeren Immunkörpers, wie es der luetische ist, leicht gesprengt wird, sondern sich auch spontan bei Bruttemperatur, weniger bei 20°, kaum bei 4° C, löst. Beim Zusammentreffen des luetischen Antigens mit dem luetischen Ambozeptor in vitro wird zunächst der freie Komplementrest aufgebraucht, dann aber, nach Maßgabe des Sättigungsbedarfes, noch das an den tuberkulösen Ambozeptor gebundene Komplement freigemacht und adsorbiert. Ein Mangel an wirksamem Komplement kann da, trotz des Hirudinzusatzes, nicht leicht eintreten und die Hemmung der Hämolyse erleidet im Luesplasma keine Störung. Anders, wenn im Eisschrank mit einem tuberkulösen Antigen ein nichtluetisches Hirudinplasma geprüft wird. Hier ist nur das frei gebliebene Komplement disponibel. Ist seine Menge sehr gering, was schon im gesunden, desto eher aber im tuberkulösen Plasma vorkommt, kann der Fall eintreten, daß schon das zum Flüssighalten der Blutprobe nötige Hirudinquantum genügt, um das ganze Komplement durch Tötung oder Schädigung außer Aktion zu setzen. In beiden Fällen ist dann die Hemmung der Hämolyse persistent und unspezifisch. Eine positive Plasmareaktion mit einem Tbc-Antigen und bei 4° C läßt uns also in diagnostischer Beziehung oft im Ungewissen, eine negative dagegen schafft uns — man wäre fast verleitet zu sagen: absolute — Gewißheit, daß eine tuberkulöse Erkrankung der Lungen überhaupt nicht vorliegt bzw. daß der Organismus im langdauernden, aufreibenden, vergeblichen Löschungsbemühen am Ende seiner Kräfte angelangt ist und den Brand widerstandslos zu Ende sich austoben läßt.

In der 2. Phase der Komplementbindungsreaktion sieht man, daß bei Lues die Hemmung der Hämolyse bei längerer Einwirkung der Bruttemperatur anhält, bei Tuberkulose jedoch häufig, kaum eingetreten, schon wieder nachzulassen beginnt. Bei Lues liegt tatsächlich eine Hemmung, bei Tuberkulose meistens nur eine Verzögerung der Hämolyse vor. Bei der WaR. liest man das Resultat gewöhnlich nach 20 Minuten ab, aber es schadet auch nicht, wenn man dies um einige Minuten später besorgt. Bei der Tbc-Reaktion muß man aber von 5 zu 5 Minuten nachschauen, um die im Vergleich zu den Kontrollröhrchen oft nur wenige Minuten betragende Verzögerung der Lyse nicht zu übersehen. Das liegt daran, daß das in der 1., gleichgültig ob bei 4° oder 37° ablaufenden, Reaktionsphase an den Lues-Ambo-

zeptor fixierte Komplement, in der 2. Phase im Thermostaten vom Ambozeptor nicht losgelassen wird: die Hemmung der Hämolyse entsteht und hält an. Hingegen wirkt in der 2. Phase die Bruttemperatur des Thermostaten bald erschlaffend auf die lose Tbc-Ambozeptor-Komplementverbindung ein, und die Befreiung des Komplements gibt sich nur in einer Verzögerung der Hämolyse kund.

Dieselben Umstände beeinflussen auch das Endresultat der Reaktion in der 1. Phase. Das Komplement wird vom Luesambozeptor längstens in 1 Std. bei Bruttemperatur, längstens in 18 Std. bei Eisschrankkälte abgefangen und festgehalten. Diese anhaltende Kraft bringt der Tbc-Ambozeptor aber nur bei niederer Temperatur auf. Nur beim Ablauf der 1. Reaktionsphase im Eisschrank tritt das tuberkulöse Serum in die unmittelbar folgende 2. Reaktionsphase mit gebundenem Komplement ein. Läßt man aber die Reaktion bei Zimmer- oder sogar bei Bruttemperatur ablaufen, schafft man eine dermaßen unstabile Verbindung, daß nach kurzer Zeit wieder Ambozeptor, Antigen und Komplement auseinanderfallen: Bei Wegfall der konservierenden Wirkung niederer Temperatur tritt oft der tuberkulöse komplementbindende Stoff weitgehend vom Komplement entblößt in die 2. Reaktionsphase, so daß es nicht einmal zu einer Verzögerung der Hämolyse kommt. Das Ablaufenlassen der 1. Reaktionsphase im Thermostaten und das Uebersehen der Verzögerung der Hämolyse in der 2. Phase sind zwei der Hauptgründe, warum die Seroreaktion die ihr gebührende erste Stellung in der Diagnostik okkulter Lungentuberkulose noch nicht erlangt hat.

Wie bekannt, vermindert die Eisschranktemperatur die Gefahr der unspezifischen Bindungstendenz speziell des Luesambozeptors, der seiner unwählerischen Lipophile nur bei höhererer Temperatur fröhnen kann, bei niederer Temperatur aber ordentlich in den Grenzen der Spezifität sich hält. Seine unspezifischen Gelüste werden durch die Bruttemperatur der 2. Reaktionsphase, in der die haptodynamische Energie des Tbc-Ambozeptors erschlafft, wieder geweckt: der Luesambozeptor reißt das nur noch lose dem Tbc-Ambozeptor anhängende Tbc-Antigen samt Komplement an sich und das Phänomen der tuberkulosebedingten Verzögerung der Hämolyse geht in den Zustand der luogenen anhaltenden Lysehemmung über. Deshalb ist beim Arbeiten mit einem Tbc-Antigen eine lange persistierende Hemmung der Hämolyse (bei stark positivem Lues-Wassermann) auf Nichtspezifität verdächtig.

II.

Die Klinik der ausbrechenden tuberkulösen Lungenerkrankung und theoretische Erwägungen haben auf den Plan und Aufbau unserer Probe bestimmend eingewirkt. Aber auch die Adaptierung der Probe an die sozialen Züge der Tuberkulose ist nicht vergessen worden: 1) Die Probe ist so einfach in der Ausführung, daß sie im Laboratorium jeder Heilanstalt angestellt werden kann. 2) Die Probe ist billig, denn sie verzichtet auf das Meerschweinchenkomplement. Hammelblut kann aus dem Schlachthaus gratis bezogen werden. Wer ganz billig arbeiten will, macht sich das Hirudin selbst, das mindestens 20mal billiger zu stehen kommt, als das käufliche. Uns kostet das Quantum Hirudin

für 100 Proben (20 ccm = 4 Blutegel) 3 Kč = 40 Pfg. Diese 20 ccm flüssigen Blutegelextraktes können gleich auf 100 Röhrchen verteilt und darin bei 50—55° bis zur Trockenheit abgedampft werden. Zur Probe in der jetzigen Gestalt braucht man also: 3 Reihen zu 5 Röhrchen; die ersten 12 Röhrchen werden mit je 0,1 ccm nicht erhitztem Serum, die letzten 3 mit ebensoviel Hirudinplasma beschickt. In die ersten Röhrchen aller 3 Reihen kommen je 0,4 ccm phys. Kochsalzlösung, in die zweiten Röhrchen je 0,4 ccm des im Verhältnis 1:80 verdünnten luetischen Antigens Bordet-Ruelens (0,5 ccm davon durch Abdampfen vom Alkohol befreit, der Rückstand in 2 ccm H_2O aufgelöst und mit 18 ccm und nochmals mit 20 ccm phys. Kochsalzlösung verdünnt), in die dritten Röhrchen je 0,4 ccm Methylalkohol 1:40, in die vierten und fünften Röhrchen aller 3 Reihen je 0,4 ccm Antigen BN 1:40. 18stünd. Verweildauer im Eisschrank bei 4° C. Sodann werden von einer 2proz. Suspension nicht sensibilisierter Hammelblutkörperchen zugestzt: in die Röhrchen der hintersten Reihe 1 ccm, der mittleren 0,5 ccm, der vordersten 0,25 ccm. Im Thermostaten bei 37° C wird während einer Zeit von 20 Min. der Ablauf der Reaktion kontinuierlich (von 5 zu 5 Min.) verfolgt. Vor der Komplementbindungsreaktion wird das Ergebnis der B.K.-Senkungsreaktion notiert. Die bei der Plasmareaktion von selbst sich darbietende Gelegenheit zur Beobachtung der Sedimentierungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen, die Schlüsse — cum grano salis — auf Aktivität oder Ruhe des fraglichen Lungenprozesses erlaubt, lassen wir nicht unbenützt vorübergehen. Zum Auffangen des Blutes, welches uns das Plasma für die Plasmareaktion liefern soll, verwenden wir markierte Agglutinationsröhrchen von 10 cm Höhe, 9 mm lichter Weite, deren Boden mit einer dünnen Schicht angetrockneten Hirudins eigener Erzeugung bedeckt ist. Ehe man bis zur Marke „3 ccm“ Venenblut einfließen läßt, wird das Trockenhirudin in einigen Tropfen phys. Kochsalzlösung aufgelöst. Nach 1 Std. mißt man die Strecke ab, welche die Blutkörperchen zurückgelegt haben. Als Meßinstrument verwenden wir einen gewöhnlichen Taschenspiegel, auf den ein Papierstreifen mit einer Millimeterskala aufgeklebt ist.

Die Verläßlichkeit der Probe wurde in 3 Jahren an vielen Hunderten Seren geprüft und erprobt. Tabellarische Ausweise werden vielleicht an anderer Stelle nachgetragen. Hier sollen nur 3 sehr aktuelle Versuchsreihen Erwähnung finden. Die erste Serie umfaßt 23 Fälle von designierten Anwärtern einer Heilstättenkur und solchen Patienten, die nach meistens 13wöchigem Sanatoriumsaufenthalt als gebessert aus der Behandlung entlassen worden sind. Sputum ohne Bazillen. Das Ergebnis der serologischen Untersuchung — 2 positive, 21 negative Resultate — kann jenen zahlreichen Erhebungen an die Seite gestellt werden, welche auf die große Zahl von Nichtbehandlungsbedürftigen hinweisen, die in Heilstätten den tatsächlich Kranken den Platz stehlen.

Die 2. Serie betrifft 100 Rekruten, die serologisch einige Tage nach ihrer Einrückung untersucht worden sind. Veranlagung zu dieser Musterung gab ein Bericht des Generalarztes Dr. Franz, aus dem hervorging, daß von den Militärpersonen des tschecho-slovakischen Heeres im Berichtsjahr 1921/1922 18,9 ‰ der Kopfstärke, im Berichtsjahr 1922/1923 sogar 24,8 ‰ der Kopfstärke an Lungentuberkulose erkrankten. Da der jetzige Friedensdienst die Soldaten keines-

wegs erschöpft, die Verpflegung gut, abwechslungs- und kalorienreich ist und auch die Quartierverhältnisse im allgemeinen sicherlich nicht derartige sind, daß sie eine Disposition zur Tuberkulose schaffen würden, muß angenommen werden, daß die Tuberkulose im Heere hauptsächlich aus dem Grunde grassiert, weil man es bei den Musterungen und Präsentierungen nicht verhindern konnte, daß latent tuberkulöse Menschen als diensttauglich anerkannt werden. Daß dem tatsächlich so ist, zeigten die serologischen Untersuchungen bei dieser Serie: es reagierten negativ 97, positiv 3.

Die 3. Gruppe setzt sich aus 123 Frauen und Mädchen zusammen, die von Lungenspezialisten und praktischen Aerzten der Landesgebäranstalt in Olmütz im Zeitraum vom 1. 10. 1924 bis 30. 9. 1925 behufs Unterbrechung der Schwangerschaft wegen angeblicher Lungentuberkulose überwiesen worden sind. Vorausgeschickt soll werden, daß wir, unbeirrt durch Lausanne, die Berechtigung eines Eingriffs bei Tuberkulose anerkennen, trotzdem auch wir uns nicht verhehlen, daß der Sieg des deutschen Interventionalismus den kranken sozialschwachen Frauen, für welche er errungen wurde, wenig Nutzen, dem guten Namen des ärztlichen Standes aber einen ungeheuren Schaden verursacht hat. Denn so wie die Sache im praktischen Leben sich entwickelte, ist die künstliche Frühgeburt aus tuberkulöser Indikation in eine konjunkturale Finanzoperation ausgeartet. Wenn man alle jene Fälle, bei denen die Schwangerschaft wegen Tuberkulose unterbrochen wurde, statistisch erfassen könnte, würde man zu dem paradoxen Ergebnis kommen, daß die Lungentuberkulose vorwiegend eine Krankheit der besser situierten Frauen ist. Der Interventionalismus ist gut, aber er kam zu früh, früher als das diagnostische Rüstzeug zur sicheren Erkennung der Aktivität resp. der Existenz einer beginnenden Tuberkulose, der Hauptindikation zur Einleitung der künstlichen Frühgeburt, bereit stand. Die Verkennung dieser Tatsache von seiten der Professoren hat zahlreichen Tartuffen unter den Aerzten gepaßt. Der Schein der Wissenschaftlichkeit und Berufsehre konnte zahlreichen von ihnen leicht durch subjektiv wahrgenommene Schalldifferenzen, ausgetüftelte Verschattungen der Röntgenplatte etc. gewahrt bleiben. Von der Ansicht ausgehend, daß die internistische und röntgenologische Untersuchung zur sicheren Diagnose einer aktiven Frühtuberkulose oft nicht ausreicht, entschied sich der Vorstand der hiesigen Landesgebäranstalt, Doz. Dr. Trapl, für eine Schwangerschaftsunterbrechung nur dann, wenn der objektive bakterio-serologische oder bei bazillenfreiem Sputum der serologische Befund allein einwandfrei die Diagnose des den Eingriff empfehlenden Arztes bestätigte. Dieses Vorgehen sollte Nachahmung finden und womöglich gesetzlich statuiert werden. Von den 123 angeblich tuberkulösen Schwangeren hatten Tbc-Bazillen im Sputum 16. Von den restlichen 107 zeigten eine positive Reaktion 33. Erwähnt soll werden, daß die Gestationsveränderung des Serums in den ersten Schwangerschaftsmonaten keinen merklichen Einfluß auf unsere Seroplasmareaktion ausübt. Wir verfügen auch über eine Reihe von Beobachtungen, welche dartun, daß auch im 10. Schwangerschaftsmonate und einige Tage nach der Geburt die Probe in bezug auf Verläßlichkeit nichts zu wünschen übrig läßt. Von den seropositiven Fällen wurden fast alle, von den seronegativen die größere Hälfte zweimal in Halbjahrsfristen klinisch nachkontrolliert. Es konnte bei den letzteren

keine Schädigung der Gesundheit durch die erhaltene Schwangerschaft und durch das Wochenbett, die auf das Konto einer doch bestandenen aktiven Tuberkulose zu setzen wäre, nachgewiesen werden. Unter den Seropositiven gab es nicht einen einzigen Fall, von dem man hätte behaupten können, daß die Einleitung der künstlichen Frühgeburt unnötig resp. nicht indiziert war.

Literaturübersicht.

Literatur bei Pfannenstiel, Weichardt Erg. 1924. 103. Außerdem: Lorenc, V., Ueber Tbc.-Antigene. (Zvěrol. Obz. 1923. p. 223.) — Kabelík, J., Le titrage de l'antigène de Sachs-Georgi par une méthode physico-chimique suivi de quelques conclusions théorétiques. (Acta derm.-ven. 1923. 10.) — Kabelík-Gellner, Eine Aktivmodifikation der Seroreaktion auf Tuberkulose. (Čas. lék. čes. 1924. p. 878. 1827.) — Kabelík, J., Physikochemische Verfolgung der WaR. (Biol. L. Jg. 10. H. 1.) — Gellner, G., Eine Aktivmethode der Komplementbindungsreaktion bei Tuberkulose. (Seuchenbekämpfung. 1925. S. 210.) — Vignati, J., Ueber Hirudinbereitung. (Čas. lék. čes. 1925. p. 898.) — Tomčík-Vignati, 100 Komplementbindungsreaktionen im Plasma bei Lues und Tuberkulose. (Čas. lék. čes. 1925. p. 1458.) — Kabelík-Gellner-Tomčík, Fixation du complément dans le plasma syphilitique et tuberculeux. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 94. p. 209.) — Kabelík, J., Bakteriologie, Serologie, spezifische Prophylaxe und Chemotherapie der Tuberkulose. (Bratisl. lekár. l. Jg. 5. H. 4.) — Forssner, H., Les relations entre l'état de gestation et la tuberculose. Lausanne 1924. — Franz, K., Bemerkungen zur Tuberkulosestatistik im Heere. (Voj. zdrav. l. 1925. p. 8.) — Kabelík, J., Plasmareaktionen. (Vortrag in der biolog. Ges. in Brünn am 6. 5. 1925; Ref.: Biol. L. Jg. 11. 1925. p. 236.).

Beiträge zur Morphologie und Biologie der Diphtheriebazillen.

[Aus dem Institut „Robert Koch".]

Von Prof. **H. A. Gins** und Dr. **J. Fortner**[1]).

Mit 4 Abbildungen im Text.

Durch die Untersuchungen von Zingher und Soletsky waren Zweifel aufgetaucht, ob die von Knebel seinerzeit mitgeteilte Methode der intrakutanen Giftprüfung von Diphtheriereinkulturen immer zuverlässige Resultate ergebe. Es wurde daher diese Methode noch einmal an einer größeren Zahl von Reinkulturen durchgeprüft. Gleichzeitig ergab sich die Gelegenheit, an den verwendeten Reinkulturen morphologische Studien zu machen.

Im Verlauf dieser Untersuchungen hatten wir bei der Anwendung der Tuscheausstrichmethode so ausgezeichnete Einblicke in die Morphologie der Diphtheriebazillen, daß die Tierversuche vorübergehend in den Hintergrund traten und einer größeren Zahl von bakterioskopischen Studien Platz machten. Diese Arbeiten wurden in enger Verbindung mit dem Untersuchungsamt im Institut, damaliger Leiter Prof. Schnabel, später Prof. Boecker, durchgeführt. Das Vorgehen war folgendes:

1) Nach einem am 18. 1. 1926 in der Berl. Mikrobiol. Ges. gehaltenen Vortrag.

Sämtliche Fälle wurden im Untersuchungsamt ordnungsmäßig erledigt und beantwortet. Die auf solche Weise erledigten Loeffler-Platten kamen dann in die Pockenabteilung und wurden dort weiter bearbeitet. Eine technische Assistentin machte in der üblichen Weise Präparate mit der M. Neisserschen Doppelfärbung, die andere machte nur Tuscheausstrichpräparate in der früher schon einmal kurz mitgeteilten Weise: In einen kleinen Tuschetropfen, der nahe dem Rande eines Objektträgers angebracht wurde, wurde ein etwa stecknadelkopfgroßes Kulturpartikelchen verrieben. Um möglichst viele verschiedene Stellen der Kulturplatte zu berühren, war mit der Platinöse mehrmals über die Nährbodenoberfläche gestrichen worden. Nach sehr exaktem Verreiben der Kultur wurde mit der Kante eines geschliffenen Objektträgers der Ausstrich in der Weise gemacht, daß der Tropfen nachlief. Es war so ein sehr gleichmäßiges Verteilen möglich. Jede der beiden Untersucherinnen stellte selbständig die Diagnose, welche dann von dem Abteilungsleiter durch Besichtigung aller Präparate nachgeprüft wurde. In jedem Fall, der diphtheroide Stäbchen enthielt, wurde die Reinzüchtung der betreffenden Bakterienart versucht. Der für diese Untersuchungen erforderliche Zeitaufwand kann einem in Betrieb befindlichen Untersuchungsamt nicht zugemutet werden. Wenn also bei einer derart intensiven Durchsuchung des Plattenmaterials sich Resultate ergaben, die von denjenigen des laufenden Untersuchungsbetriebes abwichen, so kann hieraus keineswegs geschlossen werden, daß die Diagnostik im Amt mangelhaft gewesen sei. Bei der Betrachtung des ganzen geprüften Materiales stellte sich denn auch heraus, daß nur in einer recht geringen Zahl von Fällen sich Unterschiede gezeigt haben, daß demnach die Untersuchungsamtbefunde durchaus den zu erwartenden Prozentsatz positiver Fälle erreicht haben. Da die vorliegenden Untersuchungen das Ziel verfolgten, zu prüfen, inwiefern die Beobachtung der reinen Morphologie der Diphtheriebazillen geeignet ist, die Diagnose zu unterstützen, lassen sich aus ihren Ergebnissen vielleicht doch einige Schlüsse ziehen, die für die Zwecke praktischer Diagnostik nutzbar gemacht werden können.

Die Vorteile, die sich bei der Verwendung des Tuscheausstriches oder eines gleichwertigen, z.B. des Kollargolverfahrens, ergeben, sind einleuchtend. Die von der Kultur entnommenen Bakterien werden sehr schnell von dem viskösen Medium der Tusche umflossen und in ihrer Form beim Eintrocknen fixiert. Hierbei ist als möglich in Betracht zu ziehen, daß die in ihrem Ektoplasma geschädigten Bakterien vielleicht etwas auseinanderfließen und sich daher größer projizieren, als sie wirklich sind. Groß kann der Unterschied nicht sein, denn vergleichende Untersuchungen in der Tusche und im hängenden Tropfen haben gezeigt, daß sich die Bakterien bei beiden Methoden ungefähr gleich groß darstellen. In dieser Projektion der wirklichen oder doch annähernd wirklichen Größe liegt der Vorteil gegenüber den verschiedenen Färbemethoden. Diese setzen nämlich alle die Fixierung der Ausstrichpräparate voraus und führen immer zur Darstellung stark geschrumpfter Zelleiber (Färbung mit Loeffler-Methylenblau, Neissersche Doppelfärbung usw.) oder sie ergeben infolge der Farbstoffauflagerung auf das Ektoplasma ein unscharfes und verwischtes Bild der feineren morphologischen Details (Färbung nach Gram). Gegenüber dem hängenden Tropfen hat die Tuschemethode die Vorteile, daß die einzelnen Individuen gut beobachtet werden können, da sie von

keiner Strömung beeinflußt werden und daß der Farbkontrast zwischen den Bakterienschatten und der dunklen Tusche ein sehr großer ist. Demgegenüber ist aber der Nachteil zu erwähnen, daß die Möglichkeit der Prüfung auf Beweglichkeit fortfällt.

Die so einfache Methode des Tuscheausstriches hat erstaunlicherweise bisher in die Technik der Diphtherieuntersuchung nur sehr geringen Eingang gefunden. Seit sie 1913, allerdings nur beiläufig in dem Artikel „Diphtherie" (M. Neisser und H. A. Gins) im Handbuch Kolle und Wassermann, 2. Auflage, erwähnt wurde, ist sie nur in einer Arbeit von Burckhardt und Enriquez aus dem Jahre 1918 eingehend besprochen worden. Trotzdem auch diese Autoren, wie ihre Tabellen zeigen, recht befriedigende Resultate damit erzielt haben, ist die Methode weiterhin aus der Literatur so gut wie völlig verschwunden. Auch die zahlreichen Autoren, welche die Morphologie und die Variabilität die Diphtheriebazillen und Diphtheroiden bearbeitet haben, glaubten ohne sie auskommen zu können. Kisskalt und Berend haben das Tuscheverfahren zwar zur Kontrolle von Einzelkulturen verwendet, aber nicht für rein bakterioskopische Zwecke. Bei den anderen Autoren (Baerthlein, Graetz, Bernhardt, Bernhardt und Paneth, Schmitz, Klinger und Schoch, Lubinski, Engering, Radice, Pesch und in dem neuen englischen Diphtheriewerk) findet sich kein Hinweis auf die Verwendung des Tuscheausstrichverfahrens. Seine tatsächlichen Vorzüge rechtfertigen unseren Versuch, es der Vergessenheit zu entreißen.

Das Material der untersuchten Fälle wurde nach seiner Durcharbeitung darauf geprüft, inwiefern die regelmäßige Verwendung des Tuscheausstriches die Sicherheit der Diagnose vergrößert oder die Unsicherheit vermehrt hatte.

Die folgende kleine Aufstellung gibt einen schematischen Ueberblick:

Diagnose des U.A.	Diagnose im Tuscheausstrich	Reinkultur	Zahl
negativ	positiv	positiv	4
„	verdächtige Stäbchen	„	10
verdächtig	negativ	negativ	1
positiv	verdächtig	„	3
„	negativ	„	2
			20
negativ	positiv	negativ	2
„	verdächtig	„	8
positiv	„	positiv	3
„	negativ	„	2
			15

Die obere Gruppe von Fällen scheint zu zeigen, daß hier die Verwendung des Tuscheausstriches die richtige Diagnose, wie sie durch die Reinkultur einwandfrei gestellt war, unterstützt hat. In der zweiten Gruppe dagegen finden sich jene Fälle, bei denen der Befund im Tuschepräparat zu einer falschen Diagnose geführt oder die richtige Diagnose verzögert hätte. Bei dem Vergleich bleibt aber immer noch ein Plus zugunsten der Tuscheuntersuchung übrig. Es scheint demnach die Verwendung, und zwar die regelmäßige Verwendung des Tuscheausstriches im laufenden Untersuchungsbetrieb an größerem Material einer Nachprüfung wert zu sein. Ueber die Art und Weise, wie diese durch-

zuführen sei, kann man verschiedener Ansicht sein. Um ein möglichst gutes Ergebnis bei möglichst geringem Zeitaufwand zu erreichen, scheint mir ein praktischer Vorschlag geeignet, den die technische Assistentin Fräulein Elfriede Paasch gemacht hat. Hiernach wäre von jeder Loeffler-Platte zuerst ein Tuscheausstrich anzulegen und zu untersuchen. Wenn überhaupt keine Stäbchen vorhanden sind, was ja gar nicht selten der Fall ist, dann kann diese Untersuchung als negativ abgeschlossen werden. Sämtliche Fälle, bei denen Stäbchen gefunden werden, sind jedoch mit der Doppelfärbung weiter zu prüfen. Hierdurch könnte die Entscheidung in jenen Fällen getroffen werden, in denen nur vereinzelte Stäbchen vorhanden sind oder wo die Möglichkeit besteht, daß entweder Streptothrix oder pleomorphe saprophytische Bazillen, die gelegentlich in der Tusche diagnostische Schwierigkeiten machen, vorhanden sind. Die Unterscheidung derjenigen Fälle, die reichlich Diphtheriebazillen enthalten, von denjenigen, die reichlich den Hoffmannschen Bazillus aufweisen, gelingt dagegen sehr leicht. Das morphologische Bild der echten Diphtheriebazillen ist vermöge seiner Vielgestaltigkeit so einprägsam, daß es zu einem wesentlichen Hilfsmittel der Diagnose werden muß, wo es regelmäßig in die Untersuchung einbezogen wird. Mit Hilfe des Tuscheausstrichs ist dies leichter und besser durchzuführen, als mit der Methode des hängenden Tropfens, die zwar gleichzeitig Auskunft über die Beweglichkeit gibt, aber doch erheblich zeitraubender in der Anwendung ist, als der Tuscheausstrich (Fig. 1 u. 2).



Fig. 1.

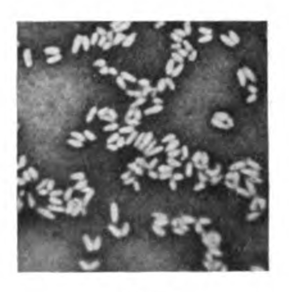


Fig. 2.

Fig. 1. Typische Diphtheriebazillen im Tuscheausstrich, 24stünd. Loefflerkultur. (In der Mitte eine der charakteristischen Knopfformen.) Imm. $^1/_{12}$ 2 mm Apert. 130, Projektionsokular 4, Kameraauszug 50 cm (Apparatur Zeiss-Jena).

Fig. 2. Hoffmannscher Bazillus im Tuscheausstrich, 24stünd. Loefflerkultur. Vergr. wie Fig. 1.

Auch unsere Erfahrungen bestätigen aufs neue die bekannte Tatsache, daß eine einigermaßen befriedigende Diphtheriediagnose nur zu erwarten ist, wenn das Material aus Rachen oder Nase erkrankter Individuen stammt. Wird alles mögliche andere Material einbezogen, dann kann es wohl vorkommen, daß Bakterien gefunden werden, die mit unseren üblichen bakterioskopischen Methoden nicht von dem echten Diphtheriebazillus unterschieden werden können, die aber mit der klinischen Diphtherie gar nichts zu tun haben. So fanden wir bei der Untersuchung der Genitalien gesunder Meerschweinchen, ebenso wie mehrere andere Untersucher vor uns, diphtheroide Stäbchen, die im Untersuchungsbetrieb zu diagnostischen Irrtümern führen müßten. Einer

dieser Stämme, gab in der Doppelfärbung ein eindeutig positives Bild und auch das Tuschepräparat zeigte alle Formen, die wir bei der echten Diphtherie zu finden gewohnt sind. Nur die Lagerung der Stäbchen zueinander war verschieden. Bei dieser Kultur wurde der Eindruck erweckt, als ob eine unsichtbare Kraft die einzelnen Stäbchen voneinander fernhielte, während in den Ausstrichen von Reinkulturen sicherer Diphtheriebazillen sich immer eine mehr gruppenförmige Lagerung der Stäbchen zeigte. Die Aehnlichkeit dieses Stammes mit der echten Diphtherie war jedenfalls so groß, daß auf rein bakterioskopischem Weg eine klare Unterscheidung nicht möglich war. Sie gelang jedoch leicht durch die Feststellung der biologischen Eigentümlichkeiten dieser fraglichen Kultur. Im Gegensatz zu der Mehrzahl der echten Diphtherien wuchs sie in der hohen Schicht nur an der Oberfläche, bildete keine Säure und erwies sich im Tierversuch als völlig ungiftig. Den Schwierigkeiten, die eine solche diphtherieähnliche Kultur machen kann, ist auch mit der Tusche nicht aus dem Weg zu gehen. Hier hilft nur die Reinzüchtung. Für die Diphtheriediagnose spielen solche Stäbchen erfahrungsgemäß jedoch keine Rolle, da sie in den Diphtherie- und Anginafällen äußerst selten zu sein scheinen. Ob und in welchem Maß derartige diphtherieähnliche Stämme in Fällen von Ozaena und Hautdiphtherie vorkommen, sollte doch noch einmal genauer geprüft werden. Der auffallend hohe Prozentsatz ungiftiger Diphtheriestämme, die in solchem Material gefunden und beschrieben worden sind, läßt immerhin die Möglichkeit offen, daß es sich um derartige Stämme gehandelt haben kann. Die Reinzüchtung und genaue biologische Prüfung der aus derartigen Affektionen gewonnenen Diphtheroiden sollte daher niemals versäumt werden.

Was nun das morphologische Bild der Diphtheriebazillen in dem Tuscheausstrich anbetrifft, so ist es im wesentlichen abhängig von dem Nährmedium, auf dem die Kultur angelegt war. Es wird auf die großen Unterschiede, die sich auf den verschiedenen Nährböden ergaben, noch etwas näher einzugehen zu sein. Hier soll die Form, wie wir sie auf dem üblichen Loefflerschen Serumnährboden sahen, in erster Linie geschildert werden. Die Unterschiede lassen sich am klarsten aufzeigen, wenn das morphologische Bild nach den gebräuchlichsten Färbemethoden zum Vergleich herangezogen wird. Das Loefflersche Methylenblau genießt den Ruf, daß es die Form der Diphtheriebazillen am besten darstelle. Das ist nach unseren Erfahrungen nur bedingt richtig und stark abhängig von den Anforderungen, die an die naturgetreue Darstellung gestellt werden. Das Bild der Diphtheriebazillen bei dieser Färbung wird beherrscht durch die sehr schlanken, leicht gekrümmten Stäbchen, die entweder an dem einen oder an beiden Enden eine keulenförmige Anschwellung zeigen. Unterschiede in der Länge der einzelnen Stäbchen treten nicht sehr hervor, weil die ungleichmäßige Färbung der einzelnen Stäbchen diesen häufig eine gestreifte Zeichnung gibt. Es ist daher manchmal nur schwer, zu unterscheiden, ob ein besonders langes Stäbchen im Gesichtsfeld vorhanden ist oder eine Gruppe von zwei oder mehr sehr kurzen Stäbchen, die sich zufällig kettenförmig aneinandergelegt haben. Immerhin ist der Anblick eines Ausstriches einer Diphtheriereinkultur, mit dem erwähnten Verfahren gefärbt, recht charakteristisch und zeigt das Wesentliche der Diphtheriekultur auf Loeffler-Serum, nähmlich die große Mannigfaltigkeit an einzelnen Formen. Die M. Neissersche Doppelfärbung zeigt

bekanntlich eine sehr prägnante Darstellung der Polkörnchen und hat sich aus diesem Grund für die Diagnose so sehr gut bewährt, daß sie aus dem Untersuchungsbetrieb nicht mehr weggedacht werden kann. Die Darstellung der Polkörnchen geht jedoch auf Kosten des morphologischen Bildes. Es ist nicht mit Regelmäßigkeit zu erwarten, daß gleichzeitig mit der guten Darstellung der Polkörnchen auch die äußere Form der Stäbchen klar erkennbar wird. Auch in dem einwandfrei gefärbten Präparat der sicheren Reinkultur findet man häufig nur den Bazillenleib als schlankes Stäbchen dargestellt, an welchem Besonderheiten der äußeren Form, wie z. B. Keulenbildung, Auftreibungen, ja nicht einmal besondere Länge der Stäbchen auffallend in Erscheinung treten.

Der Tuscheausstrich der typischen Diphtheriereinkultur auf dem Loeffler-Serum zeigt nun bereits nach 24stünd. Bebrütung ein fast verwirrendes Bild verschiedenartiger Stäbchen. Wir finden in allen Reinkulturen einen sehr großen Unterschied in der Länge der Stäbchen. Die Größen schwanken zwischen 2 und 15 Mikren. Nicht selten, besonders bei Kulturen, die längere Zeit auf künstlichen Nährböden gehalten sind, treten einzelne Stäbchen von ganz außergewöhnlicher Kürze auf.

Diese kleinen Formen, die oft beinahe kokkenförmig aussehen, werden in den gefärbten Präparaten sicher nicht selten der Beobachtung entgehen. Ihre Anwesenheit in fast allen Reinkulturen, die wir studiert haben, beweist lediglich die Tatsache, daß der Formenkreis der Diphtheriebazillen ein ganz außerordentlicher ist. Für die Diagnose kommen sie natürlich nicht in Betracht, da sie von den einzelnen Formen des Hoffmann-Wellenhofschen Bazillus nicht zu unterscheiden sind. Die Mehrzahl der Stäbchen ist jedoch so charakteristisch, daß sie auch in Mischkulturen meistens erkannt werden können. Wenn in dem Methylenblaupräparat häufig Diphtheriebazillen gefunden werden, welche an der Keulenbildung als Involutionsformen von charakteristischem Gepräge angesehen werden, so finden wir in dem Tuscheausstrich bei den meisten Reinkulturen geradezu abenteuerliche Formen. Die wesentlichsten und häufigsten Erscheinungsformen sind Stäbchen von nicht ganz schlanker Gestalt, die entweder an einer oder an beiden Seiten kolbig verdickt sind, und weiterhin Stäbchen, die eine scharf umschriebene Anschwellung in der Mitte des Leibes haben. Diese „Knopfformen“, welche der eine von uns (Gins) schon 1913 besonders hervorgehoben hat, sind von Burckhardt und Enriquez ebenfalls gefunden und für wichtig gehalten worden. Unsere neuen Untersuchungen haben auch wieder bestätigt, daß gerade diese Form bei den echten Diphtheriestämmen regelmäßig vorkommt, während sie in den Kulturen von Diphtheroiden nicht gefunden werden konnte. In allen diesen Fällen ist der Durchmesser der Auftreibung ungefähr doppelt so groß, wie der des übrigen Stäbchenquerschnittes. Die Größe und Zahl der Kolbenformen ist je nach dem Stamm und je nach dem verwendeten Nährböden recht verschieden. Wir sahen nicht selten auf der Serumplatte vorwiegend Stäbchen von ungefähr gleicher Größe mit deutlichen, aber nicht sehr starken Kolben, während die Reinkultur desselben Stammes auf Levinthal-Agar Formen von fast der doppelten Länge aufwies mit exzessiven Kolbenbildungen und nicht seltenen echten Verzweigungen. Nach unseren Erfahrungen sind Formen, wie sie seinerzeit von Trautmann und Dale beschrieben worden sind.

keineswegs selten. Wir finden sie in den Tuscheausstrichen von Kulturen, die 2 und mehr Tage bebrütet worden waren, sogar häufig. Man hat dann den Eindruck einer richtigen blasigen Veränderung eines Teiles des Bazillenleibes.

Ausschlaggebend für die Diagnose ist nach unserer Erfahrung der Gesamteindruck des mikroskopischen Präparates. Die außerordentliche Mannigfaltigkeit der einzelnen Formen und besonders die Anwesenheit der in der Mitte aufgetriebenen Stabchen scheint uns von erheblicher diagnostischer Bedeutung zu sein.

Das Bild des Hoffmann-Wellenhofschen Bazillus, des jetzt fast allgemein „Pseudodiphtheriebazillus" genannten Keimes, ist dagegen ein ganz anderes. Reinkulturen dieser Bakterienart zeigen fast immer ein recht monotones Bild ziemlich plumper, kurzer Stäbchen, die an den Enden etwas schlanker zu sein pflegen, als in der Mitte. Die Größe ist kaum mehr als die Hälfte der Größe der Diphtheriebazillen. Ganz vereinzelt kommen auch etwas längere Stäbchen zur Beobachtung, die in den Reinkulturen das Gesamtbild jedoch nicht beeinträchtigen. Auch bei mehrtägigem Wachstum ändert sich dieses Bild nicht oder doch nur ganz unwesentlich. Vor allem aber kommen die Keulenbildungen, die bei den Diphtheriebazillen so gut wie regelmäßige Befunde sind, nicht zur Beobachtung. Auch die oben beschriebenen Formen, bei denen eine scharf abgesetzte Anschwellung in der Mitte des Bazillenleibes sitzt, ist uns in Reinkulturen des Hoffmannschen Bazillus bisher noch nicht begegnet. Die dem Bac. xerosis nahestehenden Stämme zeigten noch kleinere Formen, ebenfalls ohne die Neigung zur Bildung von kolbenförmigen Involutionen, und sind in der Regel in kleinen Häufchen angeordnet. Auch diese Stämme lassen sich mit Hilfe des Tuscheausstriches recht gut von der echten Diphtherie unterscheiden.

Tierversuche mit Diphtheriereinkulturen.

Die Giftprüfung der Diphtheriebazillen mit Hilfe der intrakutanen Infektionsmethode ist bekanntlich von Römer zuerst gemacht worden, und zwar mit Kulturfiltraten. Um die Methode zu beschleunigen, hat der eine von uns (Gs.) seinerzeit zuerst die Injektion frischer Reinkulturen angewendet. Die Technik, die damals angewendet worden ist, findet sich in der Dissertation von Knebel eingehend beschrieben. Gleichzeitig mit der Beschleunigung der Methode sollte ein möglichst geringer Tierverbrauch erzielt werden. Aus diesem Grund wurden an demselben Meerschweinchen mehrere Verdünnungen derselben Kultur oder mehrere verschiedene Kulturen, und auch diese mit Antitoxin abgesättigt, injiziert. Trotzdem wir seinerzeit mit dieser Versuchsanordnung befriedigende Erfolge erzielt haben, hat sich bei der Nachprüfung dieser Methode durch Zingher und Soletsky herausgestellt, daß bei diesem Vorgehen gelegentlich Mißerfolge eintreten können, weil das an den Kontrollstellen injizierte Antitoxin eine allgemeine passive Immunität verursachen und die mit den Bakterien einverleibten Giftmengen neutralisieren kann. Dies war die Veranlassung, derartige Versuche noch einmal aufzunehmen und die Fehlerquellen noch einmal eingehend zu prüfen.

Zu diesem Zweck wurden an demselben Tier vier Stämme injiziert und für jeden Stamm noch eine Kontrolle, die außer den Diphtherie-

bazillen 0,025 ccm Antitoxin (400fach) enthielt. Die vier Antitoxinmengen ergaben eine solche Summation der passiven Immunität, daß nur bei einem der vier sicher giftigen Stämme eine typische Kokardenreaktion auftrat. Dieser Versuch wurde mehrmals mit demselben Ergebnis wiederholt und veranlaßte uns, von der Prüfung der Kultur und gleichzeitiger Kontrollinjektion von Kultur + Antitoxin an demselben Tier abzusehen. Es wurden dann weiterhin Versuche gemacht, um festzustellen, welche Antitoxinmenge an der Kontrollstelle erforderlich ist, um die Giftreaktion sicher zu verhindern. Es stellte sich hierbei heraus, daß die früher verwendeten Mengen von 0,05 1/10 bis 1/100 Antitoxin für die Neutralisierung stark giftiger Stämme nicht genügend sind. Wir mußten die Antitoxinmengen steigern und sahen sogar gelegentlich noch bei der Verwendung von 0,05 ccm unverdünnten Antitoxins an den Injektionsstellen kleine, bis erbsengroße Infiltrate und Abszesse auftreten, die die Diphtheriebazillen in reichlicher Menge enthielten.

Auch bei der von Zingher und Soletsky angewendeten Technik ist die Möglichkeit eines Fehlers noch nicht ausgeschlossen. Injizierten wir nämlich bei demselben Tier mehrere Diphtheriekulturen, dann sahen wir mehrmals die Tiere an Vergiftung sterben, noch ehe die typische Reaktion an den Injektionsstellen entstanden war. Als Ursache konnten wir in solchen Fällen regelmäßig feststellen, daß sich unter den verwendeten Diphtheriestämmen ein besonders giftiger befand.

Nach unseren Erfahrungen ist die intrakutane Injektion von jungen Diphtheriekulturen ein brauchbares Mittel, die Giftbildung sinnfällig zu machen. Es sollten aber mehrere Stämme an demselben Tier nur geprüft werden, wenn es sich um nicht extrem giftige Stämme handelt. Wie weit es möglich ist, mit der Menge der einzuspritzenden Bakterien herunterzugehen, ohne die Spezifität der Reaktion zu stören, ist von uns noch nicht eingehend bearbeitet worden. Die Wahrscheinlichkeit, dann noch bessere Resultate zu erhalten, ist jedoch nicht groß, da bei derartigem Vorgehen die schwach giftigen Stämme leicht reaktionslos bleiben können.

Schwankungen in der Giftigkeit für die Meerschweinchen sahen wir auch bei unseren neugewonnenen Stämmen und zwar in ziemlich weiten Grenzen. Unsere giftigsten Stämme töteten in der Menge von $^{1}/_{50}$ Oese der 24stünd. Löffler-Kultur nach 2—3 Tagen, während unter den schwach toxischen Stämmen sich einer fand, der nach Injektion von einer ganzen Oese erst nach mehreren Tagen tötete. Bei derartig großen Unterschieden darf man von der Intrakutan-Injektion nicht bessere Resultate erwarten, als von den anderen. Völlig fehlerfrei ist die Methode nur dann, wenn ein Diphtheriestamm an einem Tier geprüft wird und die Kontrolle mit Antitoxin an einem zweiten Tier angestellt wird. Man hat hier immer noch den Vorteil gegenüber der subkutanen und auch gegenüber der noch zu besprechenden Hodenimpfung, daß die Auswertung des Stammes durch Injektion verschiedener Konzentrationen auf demselben Tier erfolgen kann und daß auch bei nicht tödlich giftigen Stämmen die Hautreaktion nach intrakutaner Verimpfung besser abgelesen werden kann, als die subkutane oder die intratestikuläre Applikation. Ebenso ist die Intrakutanmethode unübertrefflich für Demonstrationszwecke besonders dann, wenn bereits ausgewertete Stämme zur Verfügung stehen.

Hodenimpfung bei Meerschweinchen.

Spritzt man einem Meerschweinchen eine kleine Menge einer 24-stündigen Reinkultur von Diphtheriebazillen in den Hoden, so treten bereits nach 24 Std. charakteristische Veränderungen an diesem Organ auf. Es ist eine Schwellung des Hodens vorhanden, das Betasten des Organs ist augenscheinlich stark schmerzhaft. Der Hodensack ist gespannt und gerötet. Nach weiteren 24 Std. pflegen die Tiere ausgesprochen krank zu sein mit Erscheinungen wie bei der subkutanen Verimpfung von Diphtheriebazillen, und 2—4 Tage nach der Injektion tritt der Tod ein.

Der Obduktionsbefund ist sehr charakteristisch: Die Wand des Skrotums ist auf dem Durchschnitt etwas verbreitert und bläulich verfärbt. Die Bauchfellauskleidung des Skrotum ist trüb-braunrot injiziert. Der zur Einverleibung der Diphtheriebazillen verwendete Hoden ist etwas vergrößert und diffus braun bis schwarzrot verfärbt. Bei schnellem Verlauf der Vergiftung bleibt die Hodenoberfläche glatt und glänzend und wird nur bei verzögertem Verlauf mit einem gelblichen, fibrinösen Belag bedeckt. Auf dem Durchschnitt erscheint das Hodengewebe braun bis schwarzrot durchblutet und von zerfließlicher Konsistenz. Bei längerer Krankheitsdauer wird der Hoden wieder kleiner und derber. Die Farbe ist in solchen Fällen gelblich-speckig.

Auf dem Mesorchium finden sich häufig disseminierte Blutungspunkte. In der Bauch- und Brusthöhle findet sich ein spärliches blutseröses Exsudat. Die Serosa des Magens und des Darmes ist in der Regel stark injiziert und besonders auffallend ist die blutige Durchtränkung des Netzes. Die Nebennieren zeigen regelmäßig den bekannten Befund starker Blutungen.

Dieses charakteristische Sektionsbild haben wir nach der Hodeninjektion giftiger Diphtheriebazillen regelmäßig gesehen und sind berechtigt, diese Methode als einwandfreie Prüfung auf Diphtheriegift zu empfehlen.

Die von uns angewendete Technik ist die folgende: Die Einstichstelle am Hoden wird mit Aether-Alkohol gereinigt. Vor der Injektion wird der Hoden prall gespannt und die mit der Bazillenemulsion gefüllte Spritze derart eingeführt, daß die Injektionsflüssigkeit sicher in das Hodenparenchym deponiert wird. Die Bazillenemulsion wird in steriler physiologischer Kochsalzlösung hergestellt und so abgestimmt, daß die gewünschte Menge von Diphtheriebazillen in 0,2 ccm Flüssigkeit enthalten ist. Größere Mengen zu injizieren ist nicht zweckmäßig, weil sonst schwere traumatische Verletzungen verursacht werden können.

Die histologische Untersuchung mehrerer mit Diphtheriebazillen injizierter Meerschweinchenhoden ergab übereinstimmend die Tatsache, daß die Diphtheriebazillen nicht diffus durch das ganze Organ verbreitet sind, sondern in einzelnen Nestern, gleichsam in einer intratestikulären Kolonie liegen. Diese Nester scheinen tatsächlich der Ausdruck für eine, wenn auch geringgradige, Vermehrung der Diphtheriebazillen zu sein. Dies ist nicht nur aus der herdförmigen Anordnung zu schließen, sondern auch aus der Morphologie der einzelnen Stäbchen. Die Diphtheriebazillen in den Nestern zeigen übereinstimmend eine Form, wie sie in den Loeffler-Kulturen nicht angetroffen wird. Wir sahen fast ausschließlich einförmige schlanke Stäbchen, mit Andeutung

von Keulenbildung, aber ohne die weitgehenden Involutionsformen, die wir in den Loeffler-Kulturen als charakteristisch für die Diphtheriebazillen ansprechen müssen. Die Stäbchen im Hoden ähneln dem Hoffmannschen Bazillus sehr und sind höchstens etwas schlanker als dieser. Aehnliche Formen sind früher auch in der menschlichen Diphtheriemembran in Schnitten dargestellt worden.

Die Frage ist daher wohl berechtigt, ob die uns aus der bakterioskopischen Diagnostik vertrauten Formen der Diphtheriebazillen das eigentliche natürliche Bild des giftigen Mikroben darstellen oder ob dies vielmehr die schlanken Stäbchen, wie wir sie im Organ fanden, sind. Wir möchten der letzteren Auffassung zuneigen; denn wir haben in den Hodenschnitten festgestellt, daß sich in der Nähe der Bazillennester Leukozyten mit phagozytierten Diphtheriebazillen vorfinden und daß die in den Leukozyten sichtbaren Stäbchen durchaus die vielgestaltigen Formen aufweisen, wie sie sich in den Loeffler-Kulturen zeigen. Auf Grund dieser Befunde läßt sich die Vermutung äußern, daß erst die Berührung der Diphtheriebazillen mit dem Protoplasma der Leukozyten zur Bildung dieser Involutionsformen Anlaß gibt.

Die Giftigkeit der uns zur Verfügung stehenden Diphtheriestämme schwankte in folgenden Grenzen: $^1/_{25}$ Oese tötete in der Regel nach 2—3 Tagen. $^1/_{50}$ bis $^1/_{100}$ Oese tötete nach 3—11 Tagen, je nach den verwendeten Stämmen. Einige mit solch kleinen Mengen injizierten Tiere überlebten. Eines dieser Tiere zeigte, als es nach 13 Tagen getötet worden war, im injizierten Hoden zwei gut abgegrenzte linsengroße nekrotische Herde. Die bakteriologische Untersuchung ergab nach 24 Std. 3 Kolonien typischer Diphtheriebazillen. Aehnliche lokalisierte Nekrosen wurden auch beobachtet, wenn die Versuchstiere durch subkutane Antitoxingaben passiv immunisiert waren. Auch in diesen Fällen gelang die Reinkultur aus dem Hoden noch 8 Tage nach der Injektion. Weit üppiger war jedoch das Wachstum der Diphtheriebazillen, wenn bei den der Vergiftung erlegenen Tieren nach 2—4 Tagen Kulturen aus dem Hodengewebe angelegt worden waren. In der Regel erhielten wir nach 24 Std. eine üppige Reinkultur typischer Stäbchen. Wir haben in vergleichenden Versuchen festgestellt, daß die Diphtheriebazillen leichter und reichlicher aus dem Hoden zu züchten sind, als aus dem subkutanen Infiltrat, und sehen auch aus diesem Grund einen Vorteil in der intratestikulären Prüfung der Diphtheriestämme.

Die Leichtigkeit, mit der die Diphtheriebazillen aus dem Hoden wiederzubekommen sind, gab Veranlassung zur passagenweisen Durchführung einer Reinkultur durch den Meerschweinchenhoden. Diese Versuchsreihe sollte Aufschluß darüber geben, ob eine typische Kultur nach mehrfacher Durchführung durch den Hoden Veränderungen morphologischer Art oder bezüglich der Giftbildung aufweise. Das Vorgehen war derart, daß von dem als gut toxisch bekannten Diphtheriestamm „27“ zuerst $^1/_{25}$ Oese intratestikulär verimpft wurde. Nachdem das Tier der Vergiftung erlegen war, wurden aus dem Hoden Kulturen angelegt, welche nach 24 Std. zur Hodeninjektion bei dem zweiten Meerschweinchen verwendet wurden. Auf diese Weise wurde derselbe Stamm durch 14 Meerschweinchenhoden geschickt. Im Lauf dieser Passagen ergaben sich keinerlei Veränderungen. Die Dosis letalis minima

war unverändert und das mikroskopische Bild der Kultur von der 24-stünd. Loeffler-Platte war genau so, wie vor Beginn des Versuches. Eine Degeneration des Stammes war demnach durch diese Passagen nicht eingetreten.

Feststellung von Diphtheriebazillen in inneren Organen.

Befunde von Diphtheriebazillen in inneren Organen sind nicht häufig gelungen.

Nur wenige Untersucher haben in einzelnen Fällen Diphtheriebazillen in inneren Organen beim Menschen oder beim Versuchstier sicher festgestellt. Wir können auf Grund einiger Versuche die bisherige Auffassung, nach welcher die Diphtheriebazillen nur selten in die Zirkulation gelangen, nur weiter stützen. Die bisher nicht verwendete Hodenimpfung, welche den Diphtheriebazillen einen neuen Eintrittsweg vermittelte, regte immerhin dazu an, zu prüfen, ob sich andere Verhältnisse bei dieser Applikationsweise zeigten.

Wir gingen derart vor, daß mit sicher toxischen Stämmen die tödliche Dosis intratestikulär eingespritzt wurde. Nach dem Tod der Tiere, wurden aus allen inneren Organen Kulturen auf Loeffler-Serum angelegt und diese nach 24 Std. und nach längerem Wachstum geprüft. Das Ergebnis der Befunde nach Hodenimpfung ist in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Tot nach Tagen	Ergebnis der Kultur aus							
	Herzblut	Leber	Galle	Niere	Harn	Milz	Hoden	Pleuraexsudat
3	—	—	.	.	—	—	+	—
3	.	.	.	—	.	.	+	.
2	.	.	—	.	.	+	+	+
2	—	—	.	—	.	.	+	.
2	—	.	.	—	.	+	+	.
3	—	.	—	—	—	.	+	.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß nur aus dem Hoden, in den injiziert worden war, die Diphtheriebazillen regelmäßig wieder herausgezüchtet werden konnten. Die übrigen positiven Befunde, zweimal in der Milz und einmal in dem Pleuraexsudat, sind bei Tieren erhoben worden, die der Vergiftung schon nach 2 Tagen erlagen. Es ist also hier eine gewisse Analogie zu den Befunden bei der menschlichen Diphtherie, wo die Bazillen aus inneren Organen fast immer nur in Fällen mit besonders schweren klinischen Erscheinungen gezüchtet werden konnten. In gleichem Sinn dürften die Untersuchungen an Meerschweinchen zu verwerten sein, bei welchen die Diphtheriebazillen in die Blutbahn eingespritzt worden waren. Bei 3 derartigen Versuchen wurden Herzblut, Niere, Nebenniere, Leber, Gehirn, Hoden, Milz und Pleuraexsudat geprüft. Bei 2 Tieren, die nach 3 Tagen starben, gelang der Nachweis der Diphtheriebazillen in den inneren Organen überhaupt nicht, bei dem dritten Tier, welches der Vergiftung schon nach 2 Tagen erlag, wurden die Bazillen nur in der Niere gefunden.

Der Nachweis der Diphtheriebazillen ist auch nach unseren Ergebnissen in den inneren Organen nur in vereinzelten Fällen zu erbringen.

Untersuchungen über morphologische Variationen.

Da unsere Diphtherieuntersuchungen mehrmals unterbrochen werden mußten, ließ es sich nicht vermeiden, daß die Stämme mehrere Wochen lang im Eisschrank konserviert worden sind. Um aber den völligen Verlust der Stämme zu vermeiden, wurden weitere Reinkulturen im Laboratoriumsschrank unter Lichtabschluß und bei etwa 20° C aufbewahrt und etwa alle 2—3 Wochen auf neue Nährböden gebracht. Die Besichtigung derartiger alter Kulturen zeigte insofern Veränderungen, als die schon mehrmals beschriebenen Verschiedenheiten in der Kolonieform häufig vorhanden waren. Wenige Versuche, bei einigen Stämmen durch gesonderte Reinzüchtung verschieden aussehender Kolonien aus derselben Reinkultur zu dauerhaften Varianten der Diphtheriebazillen zu gelangen, sind uns nicht gelungen. Dagegen sahen wir fast regelmäßig so große Unterschiede in der Form der einzelnen Stäbchen, daß wir diese Abweichungen von dem Normalbild des typischen Diphtheriebazillus etwas näher prüften. Auffallend war die Tatsache, daß große morphologische Unterschiede auftraten, je nachdem die Kulturen auf Loeffler-Serum oder Levinthal-Agar gehalten worden waren. Die Veränderung war recht vielgestaltig. Teilweise sahen wir vorwiegend kurze plumpe Stäbchen auftreten, wo die Ausgangskultur aus schlanken Formen mit deutlichen und charakteristischen Involutionsformen bestand, und teilweise sahen wir gewissermaßen Riesenformen mit großen Auftreibungen im Sinne der von Trautmann und Dale beschriebenen Befunde. Unsere Untersuchungen beziehen sich übrigens nur auf Stämme, die durch ihre Giftbildung als einwandfreie Diphtheriebazillen nachgewiesen waren.

Die erheblichen morphologischen Verschiedenheiten, wie sie uns entgegentraten, sind an 4 beliebig herausgegriffenen Stämmen hier tabellarisch wiedergegeben:

Di-Stamm Nr.	Dauer der Bebrütung und Nährsubstrat	Farbe der Kolonien	Morph. Bild im Tuscheausstrich
2	2täg. auf Loeffler-Serum	gelblich	vorwiegend kurze Stäbchen
	1täg. Levinthal-Agar	„	vorwiegend lange Stäbchen
	8täg. Levinthal-Agar	„	beide Formen, gemischt
27	2täg. Loeffler-Serum	weiß	kurze und mittellange St.
	1täg. Levinthal-Agar	„	auffallend lang mit extremen Keulenformen
	8täg. Levinthal-Agar	„	kurze und lange Formen
117	2täg. Loeffler-Serum	„	kurze und mittellange
	1täg. Levinthal-Agar	„	auffallend lange Stäbchen
	8täg. Levinthal-Agar	„	kurze und lange Stäbchen
382	2täg. Loeffler-Serum	gelb	auffallend kurz
	1täg. Levinthal-Agar	„	meist mittellange Stäbchen
	8täg. Levinthal-Agar	„	meist mittellange Stäbchen

Dieselben 4 Stämme boten nach weiteren 4 Wochen, in welchen sie teils im Brutschrank, teils im Eisschrank gehalten wurden, das gleiche Bild bei 1—3tägigem Wachstum. Die Wiederholung der vergleichenden Untersuchung der 4 Stämme nach weiteren 7 Wochen auf 2tägigem Loeffler-Serum und Levinthal-Agar ergab die gleichen mikroskopischen Bilder im Tuschepräparat. Ein Unterschied gegenüber den früheren Untersuchungen ergab sich nur bezüglich des Aussehens

der Kulturen. Die Loeffler-Kulturen von Di 2 und 382 waren nicht mehr gelblich wie zuerst, sondern weiß, trocken und hafteten zähe an der Nährbodenoberfläche. Die Doppelfärbung war nur noch bei Di 117 gut und reichlich. Bei den anderen Stämmen war sie dagegen nur noch in einzelnen Exemplaren vorhanden.

Diese Beobachtung ist insofern sehr wichtig, als sie beweist, daß bei ausschließlicher Verwendung der Doppelfärbung bei 3 von den 4 Stämmen die Entwicklung einer morphologischen Variante nach der Richtung des Pseudo-Diphtheriebazillus hätte vermutet werden können. Nach unserer Erfahrung demonstriert das Tuschepräparat die unter normalen Bedingungen zustande kommenden Formveränderungen der Diphtheriebazillen weit besser als jede andere Methode.

Bei früheren Variabilitätsstudien ist auf die tatsächliche Form des Diphtheriebazillus nicht der entscheidende Wert gelegt worden, sondern auf die Doppelfärbung und das Giftbildungsvermögen. Während Bernhardt und Paneth vorwiegend die Doppelfärbung beachteten, haben Römer und auch Schmitz außerdem auch die Länge der Stäbchen in Betracht gezogen. Ueber die Prüfung des morphologischen Verhaltens mit Hilfe des hängenden Tropfens oder einer anderen gleichwertigen Methode ist bei den erwähnten Autoren keine Angabe vorhanden. Es ergibt sich aber aus den Ausführungen von Römer, daß eine gewisse Unklarheit bestanden haben muß darüber, was als Maß der Variation anzusehen ist. Römer hat die experimentellen Ergebnisse, was die Umwandlung der Diphtheriebazillen im Tierkörper betrifft, bestätigt und macht dazu aber folgende Bemerkung: „Unsere Versuche stehen somit in guter Uebereinstimmung mit denen von Bernhardt und Paneth. Es scheint mir aber wichtig, den Grad der Umformung so exakt zu bestimmen, wie wir es versuchten.

„Wenn man z. B. die viel gebrauchte Bezeichnung „Pseudodiphtherie“ nur für die Bazillen unserer Gruppe III vorbehalten wissen will, so ist eine Umwandlung echter Diphtheriebazillen zu Pseudodiphtheriebazillen uns bisher nicht gelungen.“

Ueber den Modus der Umwandlung teilt Römer mit, daß

„durch die Meerschweinchenpassage am regelmäßigsten und sichersten die Virulenz verloren geht; es folgt dann die Umänderung der Form (Umwandlung in kurze, plumpe Bazillen), während die Fähigkeit der Säurebildung und des anaëroben Wachstums zuletzt verloren geht“.

Wenn sich also die Brauchbarkeit des Tuscheausstriches für die Differenzierung der echten und der Pseudodiphtheriebazillen bestätigen sollte, dann ist eine weitere Möglichkeit gegeben, bei Variabilitätsstudien das Maß der Umwandlung festzulegen. Die Doppelfärbung allein genügt als Kriterium für die morphologische Umwandlung nicht, wie unsere oben erwähnten Beobachtungen an Kulturen auf verschiedenen Nährböden beweisen. Die Resultate von Bernhardt und Paneth, ebenso wie diejenigen von Römer und Schmitz werden hierdurch jedoch nicht berührt; denn wir sahen auf den Nährböden nur reversible Modifikationen, die leicht zur Ausgangsform zurückgebracht werden konnten, während die von diesen Autoren erzielten Stämme zum Teil irreversibel blieben.

Atypische Kolonieformen aus dem Meerschweinchen-Serum im Reagenzglasversuch sahen wir nicht, ebenso wie auch Schmitz in dieser Hinsicht keine positiven Resultate erzielen konnte. Es war jedoch

sehr auffallend, wie weitgehende Veränderungen die im Meerschweinchenserum mikroskopierten Bazillen durchgemacht hatten. Wir sahen folgende Veränderungen: Die Doppelfärbung pflegt nach 24 Std. zu verschwinden oder doch durchaus atypisch zu werden. Als Ursache hierfür konnten wir durch das Tusche- und das Gram-Präparat weitgehende Schädigung des Ektoplasma der Diphtheriebazillen feststellen. Nach 1-, 2- und 3tägigem Aufenthalt im Meerschweinchenserum fanden wir Häufchenbildung und körnigen Zerfall der eingesäten Stäbchen. Im Tuschepräparat war die Unschärfe der Konturen sehr auffallend. Die Gram-Färbung wurde negativ. Mehr oder weniger ausgesprochene Veränderungen dieser Art sahen wir bei mehreren Versuchen. Die Rückübertragung dieser stark veränderten Bazillen auf Loeffler-Serum führte aber jedesmal wieder zu einer üppigen Kultur typischer und toxischer Stäbchen.

Die Beobachtung eines besonderen Stammes, des Stammes 2, ließ das Auftreten der verschiedenen Formen der Diphtheriebazillen noch in einem anderen Licht erscheinen. Dieser Stamm verdient eine etwas

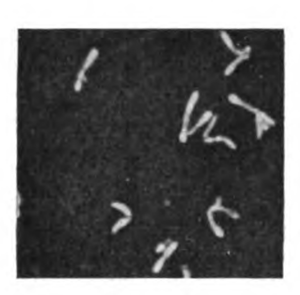


Fig. 3.



Fig. 4.

Fig. 3. Diphtheriestamm 2, bei 37° an- und weitergezüchtet. Vergr. wie Fig. 1.

Fig. 4. Diphtheriestamm 2, bei 22° an- und bei 37° weitergezüchtet. Vergr. wie Fig. 1.

eingehendere Beschreibung. Ursprünglich stammte er aus einem Unteranscheinend typisch. Tierversuch: positiv, starke Säurebildung. Es war kein Zweifel an der Diagnose. Als der Stamm nach 8 Wochen Aufenthalt auf Lewinthal-Agar noch einmal reingezüchtet worden war, zeigte er nichts Auffallendes. Im Januar 1925 war das mikroskopische Bild von demjenigen anderer Diphtheriestämme nicht verschieden. Die Tatsache, daß kürzere und längere Formen in der Kultur vorhanden waren, spricht nicht hiergegen. Eine Besonderheit trat erst auf, als neue Kulturen, die von einem Vorratsröhrchen aus dem Oktober 1924 angelegt waren, bei verschiedener Temperatur standen. Bei Brutschranktemperatur wuchsen die typischen und giftigen Diphtheriebazillen, bei Zimmertemperatur aber erhielten wir schon nach 48 Std. ein ziemlich reichliches Wachstum von sehr gleichmäßig kurzen Stäbchen, die in dem Tuscheausstrich durchaus den Pseudodiphtheriebazillen glichen. Ihre Doppelfärbung war aber noch recht gut, wenn auch nicht typisch. Diese bei Zimmertemperatur erhaltene Kultur erwies sich als völlig ungiftig. Die Ueberführung auf neue Nährböden und in den Brutschrank änderte an dem Aussehen der Stäbchen nichts. Die morphologische Veränderung ist also nicht nur durch das Wachstum bei

niederer Temperatur erzielt worden, sondern es mußte etwas anderes in Frage kommen. Derselbe Versuch, Ausgang von einem alten Vorratsröhrchen und Abzweigung der Kultur bei 37° und 22° ergab dasselbe Bild, trotzdem die Kultur mindestens zehn Mal von der einzelnen Kolonie reingezüchtet worden war. Später trat allerdings insofern eine weitere Veränderung des Stammes ein, als die klare Scheidung in giftige lange und in ungiftige kurze Zweigkulturen nicht mehr so gut gelang, wie im Anfang. Die seinerzeit aus diesem Stamm 2 gewonnenen beiden Typen sind jedoch noch in unserer Hand und sie haben sich beide bisher als konstant erwiesen (Fig. 3 und 4).

Angesichts dieser Befunde ist die Frage berechtigt, ob es sich hier nicht um eine ganz deutliche Umwandlung eines echten Diphtheriestammes in einen Diphtheroiden gehandelt habe. Einen Beweis nach dieser Richtung haben wir jedoch nicht. Eine solche Umwandlung ist auch durchaus nicht wahrscheinlich und mit den früheren Beobachtungen nicht in Einklang zu bringen. Wo derartige Umwandlungen beschrieben worden sind (Jakobsthal, Bernhardt und Paneth, Römer, Schmitz), hatte sich an einzelnen Kolonien aus einer großen Zahl heraus die Variante gebildet. Bei unserem Stamm müßte aber eine Variation in toto angenommen werden und unter dem Einfluß der niederen Temperatur. Daß diese allein das morphologische Bild ändern kann, ist nicht neu. Wo aber eine solche Aenderung bei Reinkulturen zustande kam, führte die Züchtung bei 37° immer wieder zum Ausgangsstamm zurück. Nicht aber bei unseren Beobachtungen, wo anscheinend eine definitive Umwandlung in den atoxischen diphtheroiden Typ entstand. Derartiges ist bisher noch nicht beobachtet und auch wir sind nicht geneigt, eine solche Erklärung heranzuziehen. Wir möchten, vorläufig nur als Arbeitshypothese, annehmen, daß es sich in unserem Fall um eine Symbiose von echter und Pseudodiphtherie gehandelt habe, die auch durch mehr als zehnmalige Reinzüchtung von der einzelnen Kolonie nicht getrennt werden konnte. Derartige Beobachtungen sind an anderen Bakterienarten schon gemacht worden. Der eine von uns (Gins) hat früher einen atypischen Paratyphus B-Stamm in Händen gehabt, der sich nur durch die Geißelfärbung als Symbiose dieser Bakterienart mit dem Spirillum alcaligenum erkennen ließ. Dies letztere Spirillum hat nämlich 2 Geißelbüschel an den Enden, während der Paratyphus peritrich begeißelt ist. Diese Symbiose konnte durch ungefähr 30malige Reinzüchtung von der einzelnen Kolonie nicht getrennt werden.

Wir möchten, wie schon erwähnt, die Möglichkeit solcher Symbiosen als Arbeitshypothese gewertet wissen, da uns ein Beweis in dem vorliegenden Fall nicht gelungen ist. Wir halten es aber für zweckmäßig, daß bei weiteren Variabilitätsstudien an eine solche Möglichkeit gedacht wird. Von der Verwendung des Tuscheausstriches bei morphologischen Diphtheriestudien erwarten wir noch in anderer Hinsicht einen Fortschritt. Die Neissersche Einteilung der Diphtheriebazillen enthält eine Gruppe: atypische, virulente Diphtheriebazillen. Diese Gruppe hat, wie Paneth wohl mit Recht betont, schon öfter zu Mißverständnissen geführt. Paneth geht aber sicher zu weit, wenn er meint, daß die Schaffung dieser Gruppe schon auf das Vorhandensein von Zwischenstadien zwischen der echten und der Pseudodiphtherie hinweisen soll. Wenn man für die Zwecke von morphologischen Diphtheriestudien die Doppelfärbung nicht als das ausschlaggebende Symptom, sondern

als eines der wichtigen Unterscheidungsmerkmale betrachtet und die reine Morphologie mehr als bisher in den Vordergrund stellt, dann wird diese Gruppe der „atypischen, virulenten“ Bazillen wahrscheinlich ganz verschwinden. Wir haben im Lauf unserer Untersuchungen gar nicht selten toxische Stämme gehabt, die keine oder fast keine Doppelfärbung gaben und die, im Tuschepräparat betrachtet, als einwandfreie echte Diphtheriebazillen zu identifizieren waren.

Zusammenfassung.

1) Die Einführung der Tuscheausstrichmethode in die regelmäßige Diagnostik der Diphtheriebazillen wird nach der oben beschriebenen Weise empfohlen. — 2) Die Giftprüfung frischer Diphtheriereinkulturen durch intrakutane Injektion bei Meerschweinchen gibt nur dann einwandfreie Resultate, wenn es sich um Stämme von mäßiger Giftigkeit handelt und wenn die Antitoxinkontrolle auf einem besonderen Tiere gemacht wird. — 3) Zur Prüfung der Giftigkeit von Reinkulturen hat sich die Injektion in den Hoden bei Meerschweinchen sehr gut bewährt. — 4) Der Nachweis von Diphtheriebazillen in den oberen Organen von Versuchstieren gelang nur ganz vereinzelt und war augenscheinlich abhängig von der Verwendung hochtoxischer Stämme. — 5) Bei Variabilitätsstudien sollte mit der Möglichkeit von schwer trennbaren Symbiosen diphtheroider Stäbchen mit den echten Diphtheriebazillen gerechnet und das bakterioskopische Tuscheverfahren immer angewendet werden.

Literatur.

1) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 81. 1918. S. 430. — 2) Burckhardt u. Enriquez, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. S. 15. — 3) Bernhard, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 79. 1915. S. 179. — 4) Bernhard u. Paneth, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. Beih. 1913. — 5) Engering, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. S. 210. — 6) Graetz, P., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. S. 401. — 7) Kisskalt u. Berend, Ibid. Abt. I Orig. Bd. 81. 1918. S. 444. — 8) Knebel, M. Beiträge zur bakteriologischen Diagnose und Statistik der Diphtherie. [Inaug.-Dissert.] Gießen 1912. — 9) Klinger u. Schoch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 292. — 10) Lubinski, Ibid. Abt. I Orig. Bd. 85. 1921. S. 96. — 11) Neisser, M., u. Gins, H. A. Diphtherie i. Handb. d. pathog. Mikroorg. Kolle u. v. Wassermann, 2. Aufl. Bd. 5. 12) Paneth, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 94. 1922. S. 170. — 13) Pesch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. S. 27. — 14) Radice, Ibid. Orig Bd. 91. 1924. S. 20. — 15) Van Riemsdijk, Ibid. Abt. I Bd. 75. 1915. S. 232. — 16) Ders., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1916. S. 29. — 17) Römer, P., Berl. klin. Wochenschr. 1914. S. 503. — 18) Schmitz, K. E. F., Ibid. Orig. Bd. 77. 1915. S. 367. — 19) Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. S. 513. — 20) Seligmann, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 72 1914. S. 127. — 21) Trautmann u. Dake, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. — 22) Zingher u. Saletsky, Journ. of infect. Dis. Vol. 17. 1915. — 23) Andrews, Bulloch, Douglas, Doeyer, Fildes, Ledingham, Wolf, London (His Majesty's Stationery Office) 1923.

Experimentalstudien zur Frage über die Wirkung von Staphylokokkenbouillonfiltraten nach Besredka.

[Aus dem Staatsinstitut für Medizinische Wissenschaft in Leningrad (Lehrstuhl für Mikrobiologie).]

Von Prof. **B. Ebert** und Dr. **S. Saschina.**

Die Bedeutung von Bakterienfiltraten nach Besredka bietet nicht nur ein großes praktisches Interesse im Hinblick der günstigen therapeutische Erfolge, die mit solchen Filtraten erzielt werden, sondern beansprucht unser Interesse auch in rein theoretischer Hinsicht. Es handelt sich dabei um das Finden einer Deutung, die das Wesen der Methode auf einen bestimmten biologischen Mechanismus zurückzuführen erlaubt.

Die vorliegende Arbeit, in der die praktische Seite der Frage keine Berücksichtigung findet, stellt einen Versuch dar, zur Lösung der rein theoretischen Seite des Problems beizutragen.

Die Erklärungsversuche von Besredka selbst gipfeln bekanntlich darin, daß er als wirksames Agens, „principe vaccinant", der nach seiner Methode hergestellten Filtrate einen Stoff annimmt, der gekennzeichnet ist durch die Atoxizität, Thermostabilität und Spezifizität. Des weiteren vertritt Besredka die Auffassung, daß durch die Art der Applikation der Filtrate (Kompressen auf die Haut oder intrakutane Injektion) es als ausgeschlossen zu betrachten sei, daß bei der therapeutischen Wirkung der Filtrate es sich um Antikörperwirkung handeln könne, um so mehr, als er den Staphylokokken die Auslösung von Antikörperbildung in vivo überhaupt abspricht.

Besredka nimmt ferner an, daß in den Staphylokokken neben einem thermolabilen Stoff, der für die an der Haut und auch sonst im Organismus sich abspielenden pathologischen Prozesse verantwortlich gemacht werden muß, es noch einen thermostabilen Anteil gibt, den er als Antivirus bezeichnet und dem er spezifische antagonistische Fähigkeiten zuschreibt.

Das Fehlen von Antikörpern bei der Wirkung von Filtraten in vivo und das überaus rasche Einsetzen der Filtratwirkung sind, wie Besredka des öfteren hervorhebt, die wesentlichen Kennzeichen der Methode. Letzteres aber, die rasche unmittelbare Filtratwirkung, genügt nach Besredka allein schon, um der Anwendung dieser Methode vor der üblichen Staphylokokkenimpfung den Vorzug zu geben.

Bei der kritischen Stellungnahme zu diesen Deutungen konnten wir bereits im Frühjahr 1925, anläßlich eines Vortrags im Mikrobiologischen Verein zu Leningrad, für das überaus rasche Einsetzen der Filtratwirkung in vivo eine Hypothese aufstellen, die durch entsprechende experimentelle Befunde (s. u.) gestützt werden konnte.

Wir nahmen an, daß das rasche Einsetzen der Filtratwirkung nur erklärlich sei, falls man annimmt, daß das wirksame Filtratagens im Organismus die Bildung von entsprechenden Schutzstoffen auslöst.

Für so eine ungewöhnlich rasche Schutzstoffbildung suchten wir eine Erklärung in der Annahme, daß es in den Filtraten zu auto-

lytischen Vorgängen komme, die das Antigen sonst, bei Verwendung von üblichen Impfstoffen erst im Organismus selbst durchmacht, und die im gegebenen Falle, vielleicht zum größten Teil bereits in vitro durchlaufen werden.

Diese Hypothese steht übrigens in bestem Einklang mit den Anschauungen, die jüngst in Besredkas Monographie über die örtliche Immunität niedergelegt sind. Das Eintreten der Immunität ca. 5 Tage nach Einführung des üblichen Impfstoffes führt Besredka jetzt auf die relativ langsam ablaufende fermentative Tätigkeit der Leukozyten gegenüber den eingebrachten Keimen zurück, im Gegensatz hierzu führt er das rasche Einsetzen der Immunität nach Filtralbehandlung darauf zurück, daß im Filtrat, id est in vitro, die Bakterien bereits analoge Veränderungen erfahren, wie sie sie sonst in den Leukozyten erleiden.

Auch die Bildung von Antistoffen finden wir in Besredkas letztem Buche zugegeben; spricht er doch ausdrücklich von einer Antikörperbildung im Anschluß an die Verdauungsvorgänge, die sich am Bakterienstroma abspielen. Besredka nähert sich mit diesen Ausführungen den Anschauungen von Herzfeld und Klinger, deren Theorie wir im obigen Vortrag erwähnten; auch unsere Erklärungsweise steht zurzeit in keinem Gegensatze zu den jüngsten Deutungen von Besredka.

Der experimentelle Teil unserer Arbeit, der uns zu obiger Stellungnahme veranlaßte, erstreckte sich auf eine Reihe von Versuchen, bei denen wir mit Hilfe der inperitonealen Reaktion[1]) die Vorgänge der Filtratwirkung zu verfolgen suchten.

Die Versuchsanordnung war folgende: Nach erfolgter Laparotomie von Kaninchen wurde in das Peritoneum parietale eine bestimmte Menge Staphylokokkenkultur injiziert und die Wunde wieder geschlossen.

Die Filtratbehandlung erfolgte in dreierlei Weise.

Der 1. Serie wurde das Filtrat in die unmittelbar unter der Injektionsstelle liegenden Weichteile injiziert, der 2. intraperitoneal, der 3. Serie intravenös.

Als Kontrollen dienten Kaninchen, die ceteris paribus statt Filtrat Bouilloninjektionen erhielten. Die Filtratherstellung erfolgte aus Staphylokokken-Bouillonkulturen. Die angelegten Kulturen wurden 7—8 Tage bei 37 ° bebrütet und hernach durch Kerzen filtriert. Sterilitätsprüfung und Neubeimpfung des Filtrates mit dem Ausgangsstamm. Ging die Impfung an (öfters erst nach 3—4 Tagen), so wurde nach 7—8 Tagen von neuem filtriert, von neuem Sterilitätsprüfung angestellt und in analoger Weise eine 3., 4. usw. Impfung vorgenommen. Diese Neubeimpfungen der gewonnenen Filtrate wurden so lange fortgesetzt, bis das zuletzt erhaltene Filtrat auch bei wiederholter Neubeimpfung kein Angehen der Kultur gewährleistete. Für gewöhnlich war dazu eine 4—6malige Beimpfung und Filtrierprozedur nötig.

Zu den Versuchen wurden stets gleichnamige Kultur (inperitoneale Impfung) und Filtrat (Nachbehandlung) verwendet.

Die Prüfung obiger Filtrate im Tierversuch (intrakutan am Kaninchenohr) zeigte regelmäßig heftige lokale Entzündungserscheinungen.

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. 94. H. 2. S. 143.

Experimenteller Teil.

Kaninchen Nr. 1, Gewicht 1610 g. Laparotomie, Peritoneum eröffnet im Bereich von ca. 2 cm. Injektion von $^1/_{20}$ Oese 24stünd. Agar-Staphylokokkenkultur ins Peritoneum parietale, dicht neben der Linea alba.

Gleichzeitig in die unmittelbar die Injektionsstelle umgebenden Weichteile 4 ccm Filtrat. Wunde geschlossen. Am 4. Tage wird das Versuchstier getötet und die in Frage kommende Partie der Bauchwand exzidiert.

Untersuchungsergebnisse: Die nächste Umgebung der Wunde nicht infiltriert, das Peritoneum getrübt und stark hyperämisch. Versuche, Staphylokokken aus der inperitonealen Injektionsstelle und aus der Umgebung der gesetzten Wunde zu züchten, ergebnislos.

Kaninchen Nr. 2, 1650 g (Kontrolle). Versuchsanordnung wie bei Kaninchen 1. Statt Filtrat — Bouilloninjektion.

Untersuchungsbefund: analog dem bei Kaninchen Nr. 1 festgestellten, nur viel stärker ausgesprochen. Züchtungsversuche ergeben nach 24 Std. positiven Befund.

Kaninchen Nr. 3, Gewicht 1560 g. Versuchsanordnung wie bei Kaninchen 1. Statt 4 ccm Filtrat werden 3 ccm Filtrat injiziert.

Untersuchungsbefund: Ganz gering ausgesprochene Infiltration und Hyperämie in der Umgebung der gesetzten Wunde und der inperitonealen Injektionsstelle. Bakterioskopisch vereinzelte Kokken nachweisbar. Züchtungsversuche negativ.

Kaninchen Nr. 4, Gewicht 1600 g (Kontrolle). Versuchsanordnung wie bei Kaninchen Nr. 3. Statt Filtrat — Bouilloninjektion.

Untersuchungsbefund an der 5 Tage post operationem exzidierten Bauchwand: ähnlich dem Befund bei Kaninchen Nr. 2, nur schwächer ausgesprochen.

Die angelegten Kulturen gehen an.

Kaninchen Nr. 5, Gewicht 1480 g. Inperitoneale Injektion in gleicher Weise wie bei den vorhergehenden Versuchstieren. Das Filtrat wird aber nicht in die die Injektionsstelle umgebenden Weichteile injiziert, sondern intraperitoneal. Sektionsbefund an dem am 4. Tage post operationem getöteten Tier: reine Wundränder, eine schwach angedeutete Infiltration an der Stelle der inperitonealen Injektion. Vermehrte Flüssigkeitsansammlung in der Bauchhöhle. Ausstriche aus der inperitonealen Injektionsstelle vereinzelte Staphylokokken. Züchtungsversuch negativ.

Kaninchen Nr. 6, Gewicht 1520 g. Versuchsanordnung wie bei Kaninchen Nr. 5. Sektionsbefund: analog dem bei Kaninchen Nr. 5 festgestellten, nur mit ausgesprochenen Infiltrationserscheinungen. Im Gegensatz zu Kaninchen Nr. 5 gehen auch bei diesem Kontrolltier die angelegten Kulturen an.

Kaninchen Nr. 7, Gewicht 1410 g. Versuchsanordnung wie bei den vorhergehenden, nur wird das Filtrat intravenös verabfolgt.

Sektionsbefund am 4. Tage: kaum nachweisbare Veränderungen. Züchtungsversuche negativ.

Kaninchen Nr. 8, Gewicht 1520 g. Versuchsanordnung wie bei Kaninchen Nr. 7. Statt Filtrat — Bouilloninjektion i. v.

Sektionsbefund: stark ausgesprochene entzündlich-infiltrative Veränderungen in der Bauchhöhle. Die angelegten Kulturen geben Reinkultur von Staphylokokken.

Kninchen Nr. 9 und 10 mit gleicher Versuchsanordnung wie bei Kaninchen Nr. 5 und 6 und mit gleichen Versuchsbefunden.

Aus den in den Versuchsprotokollen niedergelegten Befunden geht mit der nötigen Eindeutigkeit hervor, daß die Staphylokokkenfiltrate die entzündlich-infiltrativen Vorgänge der inperitonealen Injektion, wie sie bei den Kontrollkaninchen zu beobachten sind, in ausgesprochener Weise abschwächen. Im Gegensatz hierzu kann von einer Herabsetzung der Hyperämie des Peritoneums bei den Filtratkaninchen kaum die Rede sein.

Als 2. regelmäßig zu beobachtender Befund wäre eine Sterilität der Bauchhöhle bei den inperitoneal infizierten Kaninchen zu erwähnen, die nur bei den mit Filtrat behandelten Tieren in Erscheinung trat, während bei den Kontrollkaninchen (statt Filtrat mit entsprechender Menge Bouillon behandelt) die Aussaaten aus der Bauchhöhle stets Reinkulturen von Staphylokokken ergaben.

Das Nichtangehen von Kulturen bei den Filtratkaninchen geht nicht konform mit den bakterioskopischen Befunden, insofern als auch

bei den mit Filtrat behandelten Kaninchen bakterioskopisch in den Ausstrichen aus der Bauchhöhle des öfteren Staphylokokken noch nachweisbar wären.

Beachtenswert ist ferner, daß die Filtratwirkung nicht nur bei örtlicher Applikation (Imbibition der umliegenden Gewebe) zustande kam, sondern auch auf dem Wege der Allgemeinwirkung bei intravenöser Filtratinjektion.

Letzteres steht bekanntlich aber im Widerspruch mit der Theorie der Lokalwirkung von Besredka.

Der Umstand, daß die intravenöse Filtratinjektion an Wirksamkeit sogar die lokale Anwendung übertraf, weist darauf hin, daß es sich bei den Filtraten von Besredka um einen bakteriellen Impfstoff handelt, dessen Eigentümlichkeit in der rasch einsetzenden Allgemeinwirkung besteht, die gewissermaßen ohne vorhergehende Latenzperiode sich offenbart.

Versuche, die zur Eruierung des antigenen Vermögens solcher Filtrate angestellt wurden, haben folgendes Resultat ergeben: 2 Kaninchen, die an 2 aufeinander folgenden Tagen je 1 ccm Filtrat iv. erhalten hatten, zeigten am 4. Tage nach der letzten Injektion einen Agglutinationstiter von $^1/_{400}$, am 6. Tage $^1/_{1000}$ und am 12. Tage $^1/_{2000}$.

Bei Kontrollkaninchen, die statt des Filtrates je $^1/_2$ und 1 Oese der entsprechenden Agarkultur in Form der üblichen Aufschwemmung iv. erhalten hatten, war die Titerhöhe an den entsprechenden Tagen $^1/_{200}$, $^1/_{800}$, $^1/_{1000}$.

Das Versuchsergebnis zeigt somit, daß bezüglich der Agglutininerzeugung die Filtrate keineswegs den üblichen bakteriellen Impfstoffen nachstehen.

Im Komplementbindungsversuch konnten sowohl bei den mit Filtraten, als auch bei den mit den üblichen Bakterienaufschwemmungen vorbehandelten Tieren komplementbindende Stoffe nachgewiesen werden, unabhängig davon, ob Filtrat oder Bakterienaufschwemmung als Antigen benutzt wurde.

Im Gegensatz hierzu verlief der Präzipitationsversuch bei den mit Filtrat vorbehandelten Kaninchen auch bei wiederholter Prüfung stets negativ.

Unsere Versuchsergebnisse können in folgenden Schlußsätzen zusammengefaßt werden:

1) Den nach Besredka hergestellten Staphylokokkenfiltraten kommt eine deutlich ausgesprochene antigene Wirkung zu, die in dem Auftreten von Agglutininen und komplementbindenden Stoffen bei parenteral vorbehandelten Tieren sich offenbart. Die Bildung von Präzipitinen konnten nicht nachgewiesen werden. — 2) Inperitoneale Infektion von Kaninchen mit Staphylokokken verläuft für gewöhnlich, bei gleichzeitiger Filtrainjektion, klinisch leichter als bei den Kontrollen. Die Schutzwirkung der Filtrate kommt zustande unabhängig davon, ob dieselben lokal, intraperitoneal oder intravenös verarbeitet werden. — 3) Ungeachtet der positiven bakterioskopischen Befunde von Staphylokokken im Wundsekret von inperitoneal infizierten und gleichzeitig mit Filtrat nachbehandelten Kaninchen, lassen sich solche Keime nicht mehr in vitro züchten. Es ist anzunehmen, daß die

therapeutische Filtratwirkung zum Teil auf letzteren Umstand zurückgeführt werden kann. — 4) Den Filtraten kommt eine ausgesprochene Allgemeinwirkung zu, die durch rasches Einsetzen nach der Filtratinjektion gekennzeichnet ist.

Im Gegensatz zu den üblichen Impfstoffen ist die Filtratwirkung an keine, einigermaßen ausgesprochene Latenzperiode gebunden. — 5) Die überaus rasch einsetzende Wirkung der Filtrate ist schwerlich mit der Ehrlichschen Rezeptorentheorie in Einklang zu bringen. Das Fehlen von erkenntnistheoretischen Grundlagen zur Deutung solcher Erscheinung erheischt die Prägung neuer Grundlagen, für die vielleicht die Hypothesen von Herzfeld-Klinger und Besredka als Vorläufer in Betracht kämen.

Nachdruck verboten.

Artumwandlung in der Enteritisgruppe.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut des Hauptgesundheitsamtes der Stadt Berlin.]

Von Prof. Dr. **E. Seligmann.**

In früheren Arbeiten haben Sobernheim und ich[1]) Beobachtungen an Bakterien der Enteritisgruppe mitgeteilt, die in der Folgezeit von uns selbst wie von anderen Forschern ergänzt und erweitert worden sind[2]). Die außerordentliche Variationsfähigkeit von Vertretern der Paratyphus B- und Gärtnerbazillen, immunbiologische Uebergänge und Zusammenhänge unerwarteter Art hatten uns zu der Ueberzeugung geführt, daß hier mehr als bloße Variantenbildung vorlag, daß vielmehr Artenumwandlungen zu beobachten waren, die meist schrittförmig, selten sprungartig vor sich gingen und die Entstehung neuer Arten bedeuteten. Im Laufe der Jahre sind die zuerst ungläubig aufgenommenen Beobachtungen durch verwandtes Tatsachenmaterial bestätigt worden; nur die Deutung als wirkliche Artumwandlung wurde von manchen Seiten bezweifelt.

Dieser Zweifel empfing neue Nahrung, als durch Weil und seine Mitarbeiter[3]) die Rezeptorenanalyse in die serologische Technik eingeführt und auch an der Enteritisgruppe erprobt wurde. Man glaubte daraufhin, unsere alten Beobachtungen mit dem Schwund und dem Neuerwerb von Rezeptoren erklären zu können, ohne die naturwissenschaftlich so bedeutungsvolle Tatsache einer Artneubildung annehmen zu müssen. So beachtenswert diese neueren Mitteilungen sind, so wenig haben sie mich bisher überzeugen können. Einmal, weil eine Fülle von Hilfshypothesen erforderlich ist, um dem Beobachteten gerecht werden zu können, sodann aber, weil in einem

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. 1910. u. a. a. O.
2) Literatur findet sich u. a. in den Verhandlungen der Dtsch. mikrobiol. Gesellsch. 1924 zu Göttingen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93).
3) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 35. 1923.

Sonderfall der Variantenbildung die Rezeptorenanalyse mir überhaupt keine Lösung erbracht hatte[1]). Auch Manteufel u. Beger[2]) fanden ein Versagen der Rezeptorenanalyse, je nachdem, ob das benutzte Immunserum vom Esel oder vom Kaninchen stammte. Jeder neue Beitrag zu diesen Fragen muß deshalb geprüft werden, ob er nun so relativ einfache Deutungen ermöglicht wie die Mitteilung von Sakai[3]), dem aus scheinbaren Paratyphus B-Stämmen Gärtner-Bazillen wurden, oder ob es sich um Befunde handelt, die immer wieder für die Artenumwandlung sprechen, wie es die im folgenden mitzuteilenden Untersuchungen tun. Während Sakai glaubt, in seinen scheinbaren Paratyphusbazillen maskierte Gärtnervarianten vor sich zu haben, die allmählich die Maske ablegen, betrifft unsere Beobachtung einen völlig einwandfreien Gärtnerstamm und sein Entwicklungsprodukt, einen ebenso einwandfreien Paratyphus B-Bazillus. Unser Befund ist nicht ohne Vorgänger ähnlichen Charakters. Bereits 1910 haben Sobernheim und ich von Gärtner-Stämmen berichtet, die, ursprünglich rein, im Laufe der Untersuchung Paratyphusbazillen beherbergten. Es waren „die Stämme Gent, G.A.N. und 13[4]. Wir fanden in diesen Kulturen nur reinen Paratyphus und reinen Gärtner, keine Uebergangsstämme".

Wir haben damals unsere Beobachtungen nur mit allem Vorbehalt wiedergegeben, weil wir den Einwand zufälliger Verunreinigung nicht mit der Sicherheit des Beweises widerlegen konnten. Die Untersuchungen, die ich heute vorlege, behandeln dasselbe Phänomen, nur daß die Entwicklung noch einen Schritt weitergetrieben erscheint.

Es handelt sich um den Gärtner-Stamm „Enteritis Halle", einen Stamm, der mehr als 20 Jahre als Laboratoriumsstamm geführt wurde und sich bisher stets als einwandfrei erwiesen hatte. Er ist in der mit Sobernheim gemeinsam ausgeführten Untersuchung aus den Jahren 1909 und 1910 eingehend durchgeprüft worden; sein agglutinatorisches und antigenes Verhalten ist in der erwähnten Arbeit protokollarisch festgelegt (S. 413, 424). Da er über besonders vielseitige Rezeptoren verfügte und ein Serum lieferte, das bei strenger Spezifität Gärtner-Bazillen der verschiedensten Herkunft gleichmäßig und gut agglutinierte, dienten der Stamm und die mit ihm von Kaninchen gewonnenen Sera seit altersher als Testobjekte im diagnostischen Dienst unseres Untersuchungsamtes. Im letzten Jahre zeigte sich nun, daß mehrfach Stämme aus Stuhl und Urin gezüchtet wurden, die sowohl von Paratyphusserum wie von diesem, wieder einmal frisch hergestellten Enteritisserum stark beeinflußt wurden. Solche Stämme, die auf Paratyphus B-Serum ebenso stark wie auf Gärtner-Serum reagierten, kannten wir in alten, variierenden Kulturen von Paratyphus B; wir hatten sie als „Doppelstämme" beschrieben. Es wäre möglich, daß auch in der Natur derartige Doppelstämme vorkämen. Zuvor erschien uns jedoch eine Ueberprüfung der benutzten Testkulturen und Testsera erforderlich.

Der diagnostische Paratyphusstamm und sein Serum erwiesen sich bei dieser Prüfung als einwandfrei; der Stamm Enteritis Halle dagegen zeigte Besonderheiten. Aussaat auf Agar- und Lackmus-Laktoseplatten ergab zwei verschiedene Formen von Kolonien, wie wir sie auch früher bei variierenden Kulturen gefunden hatten: zahlreiche mittelgroße Kolo-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 98. 1926.

nien mit zackigem Rande, auf Lackmus-Laktose-Agar milchig blau wachsend, und zwischen ihnen kleine, kreisrunde durchsichtige Kolonien von rein blauer Farbe auf dem gleichen Nährboden. Von beiden Kolonieformen wurden Schrägagarkulturen abgeimpft, die als „zackig" und „rund" für die weiteren Untersuchungen dienten. Auf den üblichen Differentialnährböden zeigten beide typisches Verhalten: Säuerung und Gasbildung aus Traubenzucker; keine Veränderung von Milchzucker; in Lackmusmolke am dritten Tage Umschlag von schwachem Rot zum Blau; keine Indolbildung.

Die Agglutinationsprüfung mit einem echten Gärtner-Serum (Greifswald), einem echten Paratyphus B-Serum und dem Enteritis Halle-Serum ergab:

	zackig	rund
Serum **Gärtner Greifswald** (4000)	—	—
„ **Paratyphus B** (4000)	—	4000
„ **Enteritis Halle** (4000)	—	2000

Von Gärtner-Agglutinabilität ist nichts mehr zu finden; vielmehr erwies sich die „zackige" Type als nicht agglutinabel, die „runde" als agglutinabel für das Serum des ungespaltenen Stammes und für Paratyphus B-Serum. Das Parallelgehen von Enteritis Halle-Serum und Paratyphus B-Serum bot Anlaß zur Prüfung des erstgenannten Serums gegenüber einwandfreien Paratyphusstämmen. Von 6 Paratyphus B-Kulturen (5 frisch isolierte, 1 ältere) wurden 2 bis zur Verdünnung 1:4000, 4 bis zur Verdünnung 1:2000 agglutiniert. Somit wiesen sowohl das Enteritis-Halle-Serum wie ein Tochterstamm der Ausgangskultur Paratyphuscharakter auf.

Nunmehr wurden mit den Stämmen „rund" und „zackig" Immunsera von Kaninchen hergestellt. Es gab zunächst erhebliche Tierverluste, als die Immunisierung — wie bei Gärtner-Kulturen zweckmäßig — sofort mit lebenden Bakterien begonnen wurde; Kombination mit bei 56° abgetöteten und später mit lebenden Kulturen führte zum Ziel.

Kultur	zackig	rund
Serum „zackig"	8000	500
„ „rund"	—	8000

Die beiden Varianten hatten also zwei völlig verschiedene Sera erzeugt, die miteinander kaum Verwandtschaft aufwiesen. Die weitere Prüfung dieser Sera ergab:

	Serum rund					
	500	1000	2000	4000	8000	C
Paratyphus B 1	+++	+++	+++	++	+	—
„ 2	+++	+++	++	+	+	—
„ 3	+++	++	++	±	—	—
„ 4	+++	+++	+++	++	+	—
Ent. Gärtner 1	++	±	—	—	—	—
„ 2	+	—	—	—	—	—
„ 3	+	—	—	—	—	—
„ 4	+	+	—	—	—	—
„ 5	+	±	—	—	—	—

Serum zackig agglutinierte mit keinem der geprüften 4 Paratyphus- und Gärtner-Stämme, auch nicht bei Verdünnungen von 1:500.

Die Serumprüfung wurde später mit beiden Sera noch an 4 weiteren Paratyphuskulturen und 8 Gärtner-Kulturen fortgesetzt; sie zeitigte das gleiche Resultat wie vorher.

Da nach unseren früheren Versuchen Agglutininbildung und Agglutininbindung nicht immer parallel gehen, haben wir noch Absorptionsversuche nach Castellani angestellt.

Ergebnis: Das mit Kultur „zackig" erschöpfte Serum „zackig" hatte seinen Agglutiningehalt verloren. Wurde mit Kultur „rund" vorbehandelt, so wies es eine geringe Einbuße an „Zackig"-Agglutininen auf (entsprechend der leichten Mitagglutination, die das unbehandelte Serum für „rund" zeigte).

Das mit Kultur „zackig" behandelte Serum „rund" behielt seine „Rund"-Agglutinine in unverminderter Stärke. Wurde es mit Kultur „rund" absorbiert, so verlor es quantitativ seinen gesamten Agglutiningehalt.

Schließlich wurden noch Versuche über die Thermostabilität der Rezeptoren angeschlossen. Abschwemmungen von „rund" und „zackig", sowie von einer echten Paratyphus B-Kultur wurden $^1/_2$ Std. auf 80° erhitzt und dann mit den zugehörigen Sera agglutiniert. Homologe und heterologe Prüfung ergab, daß alle 3 Kulturen ihre Agglutinierbarkeit durch die Erhitzung fast völlig eingebüßt hatten.

Ueberblicken wir die Gesamtheit dieser Untersuchungen, so erkennen wir: ein ursprünglich reiner und völlig typischer Gärtnerstamm (Enteritis Halle), der viele Jahre hindurch agglutinatorisch und antigen unverändert geblieben war, zeigte seit einiger Zeit abweichendes Verhalten. Die Analyse ergab, daß der Stamm seinen Gärtner-Charakter völlig verloren hatte, statt dessen aber zwei abweichende Typen in sich barg, beide kulturell dem Gärtner-Stamm entsprechend, sich aber im Kolonietyp voneinander unterscheidend. Die eine Type stellt einen Stamm mit Sondereigenschaften dar, immunbiologisch weder dem Gärtner-Bazillus noch dem Paratyphusbazillus zugehörig; die zweite Type entspricht kulturell, nach agglutinatorischem und antigenem Verhalten in allen Punkten einem echten Paratyphus B. Die Umwandlung biologisch wichtiger Eigenschaften bei Bakterien der Enteritisgruppe hat auch in diesem Falle offenbar bis zur Artumwandlung geführt.

Zur Kenntnis der Streptokokken.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg (Stellv. Dir.: Prof. Dr. E. G. Dresel.)]

Von Dr. **Erich Wirth.**

I. Mitteilung.

Obgleich die Streptokokken zu den häufigsten und wichtigsten Krankheitserregern gehören, bietet die Literatur über ihre Arteinteilung, Umzüchtung und Virulenzänderung eine Fülle von Wider-

sprüchen. Diese Unsicherheit beruht einmal darauf, daß bis jetzt nur wenige Differenzierungsmethoden allgemeine Anerkennung gefunden haben (Blutagar, Milch); vor allem aber können die z. T. sehr sorgfältigen Einzelstudien deshalb nur schwer zu einem übersichtlichen, einheitlichen Ganzen verknüpft werden, weil die einzelnen Autoren bei der Fülle des Stoffes entweder nur dieses oder jenes Verfahren angewandt, oder nur diese oder jene Streptokokkenart geprüft haben, und weil sie je nach der von ihnen bevorzugten Diffenzierungsmethode oder Streptokokkenart oft zu einem viel zu einseitigem Urteil gelangten.

So kommt es, daß selbst nahmhafte Autoren den verschiedensten Standpunkt einnehmen:

Während z. B. Schottmüller auf Grund seiner Prüfungen mit der Blutagarplatte und von Bakterizidieversuchen (1) an der Artverschiedenheit der Streptokokken festhält, sieht Kruse (2) die Streptokokken auf Grund ihrer Fähigkeit zur Milchgerinnung als eine einheitliche Gruppe mit fließenden Uebergängen an. Andere, wie Rosenow (3), wollen Pneumokokken, hämolys. Streptokokken, Viridans- und Mukosus-Streptokokken wechselseitig ineinander übergeführt haben. Auch Demmer (4) berichtet ähnliches. Dagegen kommt Norton (5) auf Grund von Versuchen über Agglutininadsorption zu dem Ergebnis, daß nicht einmal die grünen Streptokokken eine einheitliche Gruppe bilden. Gotschlich (6) hat in seinem Referate über die Variation von Bakterien auf dem Göttinger Mikrobiologentag 1924 unter dem Widerspruch Schottmüllers auch auf die Variabilität der Streptokokken bezug genommen. Im ganzen neigt man heute wohl dazu, auf Grund der von Hintze und Kühne (7), Kuczynski und Wolff (8) und von Morgenroth (9) erzeugten, experimentellen Vergrünung hämolys. Streptokokken zum mindesten hämolys. und Viridans-Streptokokken als Varianten einer einheitlichen Art anzusprechen.

In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, unter kritischer Würdigung der Literatur und auf Grund eigener Untersuchungen eine zusammenfassende Darstellung unserer heutigen Kenntnis der Streptokokken zu geben, und insbesondere die Frage der Arteinheit oder Artverschiedenheit einer Lösung näher zu bringen. Viele Einzelfragen mußten bei der Behandlung des Streptokokkenproblems berücksichtigt werden. Zur Uebersicht stellen wir unseren Ausführungen eine kurze Gliederung voran:

1. Allgemeine Merkmale der Streptokokken, Herkunft unserer Versuchsstämme.

Mangels biologischer Differenzierungsmöglichkeiten sind wir heute noch gezwungen, die Bakterien nach morphologischen Gesichtspunkten einzuteilen. Je nach der Lagerung unterscheiden wir 3 Arten von Kokken: Streptokokken, Staphylokokken und Sarcinen. Aber nicht jeder Kokkenstamm läßt sich auf eine bestimmte Art des Wachstums festlegen; auch bei längerer Beobachtung von Reinkulturen macht die Einreihung in diese oder jene Gruppe oft un-

überwindliche Schwierigkeiten. Solche Uebergangsformen züchteten wir wiederholt aus Urin; Kruse gibt diesen die allgemeine Bezeichnung „Mikrokokkus“ (10). Denn auch manche Staphylokokkenarten neigen in flüssigen Nährböden zur Kettenbildung, so der von Schottmüller beschriebene Staphylococcus aërogenes (11). Vielfach sind die Staphylokokkenketten an Parallellagerung oder knopfförmigem Herausragen einzelner Kokken von den Streptokokkenketten zu unterscheiden.

Wir bezogen unsere Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit auf solche Kokken, die in Ascitesbouillon vorwiegend Diplokokken und Ketten (ohne die erwähnten Merkmale von Staphylokokkenketten) bildeten.

Ueber die Zahl, Herkunft und Art unserer Streptokokkenstämme unterrichtet folgende Zusammenstellung:

	Hämolys.	Virid.	Pneumok.	Mucos.	Longiss.	Pleomorph.	Lactis.	Aerog.	Anhäm.	
Blut	6	8	1	—	—	1	—	1	—	17
Liquor	2	—	—	1	—	—	—	—	—	3
Eiter	60	5	10	18	—	—	—	—	1	94
Angina	9	3	—	—	8	—	—	—	—	20
Scharlach	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Erysipel	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Sputum	1	2	5	2	2	—	—	—	—	12
Nase	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Urin	—	—	—	—	—	—	2	—	1	3
Milch	—	—	—	—	—	—	18	—	—	18
	81	18	16	21	10	1	20	1	2	171

2. Das Wachstum der Streptokokken auf Schottmüllerschem Blutagar.

Da die von Schottmüller (12) zur Differenzierung der Streptokokken empfohlene Blutagarplatte auch heute noch von überragendem Wert ist für die Arteinteilung, suchten wir zunächst ein Urteil über die Wachstumsart unserer Streptokokkenstämme auf Blutagar zu gewinnen. Und zwar beschäftigte uns nicht nur die Frage, welche Wachstumsart auf Blutagar für einzelne Streptokokkenarten charakteristisch ist, sondern auch das viel erörterte Problem, ob und in welcher Hinsicht die für die einzelnen Streptokokkenarten typische Wachtumsart bei längerer Fortzüchtung veränderlich ist.

Es stellte sich heraus, daß die Strichkultur auf Blutagar bei 1—2tägiger Weiterimpfung für fast alle Streptokokkenarten ein sicheres Fortzüchtungsverfahren ist. Nur einzelne Stämme anhämolytischer Tonsillenstreptokokken stellten nach 2—3 Generationen ihr spärliches Wachstum ein. 3 Streptokokkenstämme (1 Hämol. 1 Viridans 1 Mucosus) züchteten wir ununterbrochen 10 Mon., 16 Stämme (10 Hämol., 2 Pneumok., 2 **Virid.**, 1 **Mucos.**, 1 **Longiss.**) ununterbrochen 7 Mon., 84 Stämme 49 **Häm.** 5 **Pneumok.**, 4 **Mucos.**, 13 **Viridans**, 4 **Longiss.**, 7 **Lactis**, 2 **Anhäm.**) ununterbrochen 3 Mon. auf Blutagar fort.

Dabei sicherten wir uns vor Verlusten (Verunreinigung durch Heubazillen u. dgl.) je nach der Art des betr. Stammes durch Antrocknen

an Seidenfäden (Hämol. Pneumok., Mucos., lactis), oder durch gleichzeitige wöchentliche Fortzüchtung in 10proz. Serumbouillon (Viridans). Nach Möglichkeit aber waren wir bestrebt, die einzelnen Stämme nur auf Blutplatten fortzuzüchten, die auf der Rückseite mit Farbstift in 8 Sektoren eingeteilt waren. Dies ist auch bei der übergroßen Mehrzahl dauernd gelungen.

Die monatelange Fortzüchtung von 100 Streptokokkenstämmen erlaubte folgende Feststellungen:

1) Die von Schottmüller (12) beschriebene Wachstumsart des Strept. hämolyt. (grauweiß, Hämolyse), des Strept. viridans (grüne Kolonienfarbe und grüne Verfärbung des Nährbodens), des Strept. mucosus (üppig, grün, schleimig) und der Pneumokokken (üppig, grün) ist ein charakteristisches und konstantes Merkmal dieser Streptokokkenarten. Manche Viridans-Stämme, die anfangs spärlich und erst nach 48 Std. zu sichtbaren Kolonien heranwachsen, zeigen nach längerer Fortzüchtung üppigeres Wachstum. Alle anderen Streptokokkenarten verändern die anfangs gezeigte Form der Strichkultur nicht. Diese Konstanz findet sich aber nur unter der Voraussetzung, daß die Keime alle 1—2 Tage auf vorschriftsmäßige, feuchte Blutagarplatten (13) überimpft werden.

2) Denn geschädigte Keime, trockene Blutplatten oder Blutplatten anderer Zusammensetzung (mehr oder weniger Blut, Tierblut) sind die Ursache für eine atypische Form der Blutagarstrichkultur: Das so bedingte anhämolytische Wachstum hämol. Streptokokken werden wir an anderer Stelle ausführlich besprechen (Abschnitt 9). Vor allem dann, wenn dem Agar weniger Blut zugesetzt wurde, tritt auch bei Pneumokokken, Strept. mucosus und Strept. viridans Hofbildung auf. Auf vorschriftsmäßigem Blutagar (2:5) ist aber die Kolonie dieser Keime selbst stets grün gefärbt, ebenso wie der Nährboden, nur kann sie zuweilen von einem schmalen, durchsichtigen Hof umgeben sein. Diese Hofbildung der Viridansstreptokokken ist, wie auch Mandelbaum sehr eingehend schildert (14), für den aufmerksamen Beobachter nicht mit derjenigen von hämol. Streptokokken zu verwechseln; denn die Kolonien hämol. Strept. sind selbst nie grün und im Gegensatz zu denen das Strept. viridans und longiss. immer leicht abstreifbar. Wenn der Blutagar nicht genügend Feuchtigkeit enthält, wächst der Strept. mucosus ohne Schleimbildung. Wir konnten aber in allen Fällen durch mindestens 3malige Ueberimpfung auf feuchte Blutagarplatten wieder schleimiges Wachstum erzielen.

Wir beobachteten aber auch Streptokokkenstämme von der Morphologie des Streptococcus mucosus, die niemals schleimiges Wachstum aufwiesen. Vgl. Abschnitt 10 Strept. mucosus.

3) Gewisse andere Streptokokkenstämme zeigen im Laufe der Fortzüchtung auf Blutagar, zwar nicht regelmäßig, aber doch immer wieder in typischer Weise besondere Eigenarten, wie festes Anhaften am Nährboden, intensive Farbstoffbildung, braune Verfärbung der Umgebung, trockene, körnige Oberfläche der Kolonien u. a. mehr. Diese besonderen Merkmale sind von unberechenbaren Zufälligkeiten in der Zusammensetzung des Blutagars abhängig und daher zur sicheren Differenzierung der betreffenden Streptokokkenstämme praktisch wenig geeignet. Unsere Vermutung, daß es sich wohl um Merkmale besonderer Arten handeln müßte, wurde auch

durch die weiteren Untersuchungen bestätigt. Schottmüller machte ähnliche Beobachtungen (15); doch dürften aus den erwähnten Gründen seine Beschreibungen über das üppige, hellgrüne Wachstum des Strept. „herbidus", die lehmbraune Verfärbung des Blutagars durch den Strept. „acidi lactici", das zarte, anhämolytische Wachstum des Strept. „anhämol. vaginalis" zur sicheren Wiedererkennung dieser Streptokokkenarten nicht ausreichend sein.

Im Ganzen haben unsere Beobachtungen bei monatelanger Fortzüchtung von 100 Strept.-stämmen ergeben, daß die Wachstumsart auf Schottmüllerschem Blutagar für die hämolysierenden Streptokokken, Viridans-Streptokokken, Pneumokokken und Mucosus-Streptokokken charakteristische und konstante Merkmale ergibt. Bei 1—2tägiger Ueberimpfung auf Blutagar änderte sich das typische Verhalten dieser Streptokokkenarten in 10 Mon. nicht.

3. Das Wachstum der Streptokokken auf Agar und in Fleischbrühe.

Die zarten, kleinen, runden, durchsichtigen Kolonien der hämol. und Viridans-Streptokokken, die zarten, bläulich schimmernden Kolonien der Pneumokokken und die üppig schleimigen, grauweißen Kolonien der Mucosus-Streptokokken auf der Agarplatte sind in ihrer typischen Form dem Bakteriologen geläufig. Zur sicheren Differenzierung reichen diese Merkmale aber nicht aus; denn schon kleine Zufälligkeiten in der Zusammensetzung des Agars (Feuchtigkeitsgehalt usw.) oder schon geringe Schädigungen der Keime sind imstande, die charakteristische Kolonienform auf Agar vollkommen zu verwischen. Das Gleiche zeigte sich uns auch bei der mikroskopischen Betrachtung der Kolonienform, die nach Heim (16, 17) bei 50facher Vergrößerung in einfacher Weise die Erkennung des Strept. conglomeratus, des Strept. lapillus und des Strept. lactis ermöglichen soll. Eine gewisse Bedeutung möchten wir folgenden Beobachtungen beilegen:

1) Viridans-Streptokokken haben in der Strichkultur oft ein eigentümlich körniges Aussehen. Unter kleinen zarten Kolonien sind größere, mehr undurchsichtige, die immer wieder den Verdacht auf eine Verunreinigung erwecken. Dieser Verdacht bestätigt sich aber dann nicht; da wir ähnliches bei hämol. Streptokokken nie sahen, möchten wir das beschriebene Aussehen der Agar-Strichkultur für ein typisches Merkmal des Strept. viridans ansprechen.

2) Pneumokokken, Mucosus- und Viridans-Streptokokken lassen sich nur einige Generationen auf Agar ohne Serum- oder Asciteszusatz fortzüchten. Mucosusstreptokokken verlieren dabei ihre Schleimbildung. Gut auf Agar fortzüchtbar sind Milchstreptokokken, die z. T. auch wesentlich größere Kolonien bilden.

3) Ein Vergleich der 24stdig. Blutagarstrichkultur mit der 24stünd. Agarstrichkultur lehrt, daß Pneumokokken, Strept. mucosus und Strept. viridans üppig wachsen auf Blutagar, dagegen zart oder überhaupt nicht auf Agar; umgekehrt gedeiht ein Teil der Milchstreptokokken weit besser auf Agar.

Im allgemeinen neigen wir zu der Auffassung, daß die Agarkultur nur in Verbindung mit anderen Differenzierungsmethoden eine Bedeutung für die Arteinteilung der Streptokokken hat.

In Fleischbrühe ist von jeher die eigentümliche Bildung von Grieselchen, Flöckchen und Konglomeraten aufgefallen. Es hat auch nicht an Untersuchern gefehlt, die darin differentialdiagnostische Merkmale sehen wollten. Kurth beschrieb schon 1891 (18) die Bröckelbildung von Scharlachstreptokokken und unterschied diesen „Strept. conglomeratus" vom Strept. pyogenes. Auch Thalmann (19) betrachtet den Strept. conglomeratus als besondere Gruppe. Eigene Nachprüfungen lassen die Aufstellung einer Sondergruppe auf Grund des bröckeligen Wachstums in Fleischbrühe als nicht berechtigt erscheinen. Denn wie sich bei wiederholter Prüfung von 60 fortgezüchteten Pyogenes-Stämmen gezeigt hat, ist die mehr oder weniger große Neigung zur Konglomeratbildung erstens kein konstantes Merkmal bestimmter Stämme, und zweitens von Zufälligkeiten in der Zusammensetzung der Fleischbrühe abhängig. Auch wir beobachteten eine auffallende Konglomeratbildung bei unseren beiden Scharlachstämmen. Diese verlor sich im Laufe der Fortzüchtung, bei einem Stamm erst nach Wochen, bei dem anderen schon nach wenigen Tagen. In beiden Fällen ging gleichzeitig mit der Bröckelbildung auch die Virulenz für weiße Mäuse verloren. Schon Kurth hebt die außerordentliche Pathogenität seines Streptokokkus conglomeratus für weiße Mäuse hervor; wir selbst können dasselbe für die von uns beobachteten Stämme mit Konglomeratbildung bestätigen. Bei Zusatz von 5—10proz. Pepton bleibt aber die Konglomeratbildung aus. Daher möchten wir die Vermutung aussprechen, daß die Konglomeratbildung bei Pyogenes-Streptokokken ganz allgemein dann auftritt, wenn Kokken von höchster Vermehrungsbereitschaft in wenig zusagendem flüssigen Nährboden wachsen.

Der **Strept. viridans** trübt zwar in der Regel die Fleischbrühe zart, aber dieses Verhalten ist nicht konstant; zuweilen bildet der gleiche Stamm auch kleine Grieselchen in klarer Flüssigkeit. Ein Teil der Milchstreptokokken bedarf zum Wachstum in Bouillon eines Kohlehydrates, so daß z. B. 2proz. Milchzuckerbouillon stark getrübt wird, während Bouillon ohne Zusatz klar bleibt. Die diesbezüglichen Untersuchungen Bitters (20) können wir bestätigen.

In Aszitesbouillon zeichnen sich gewisse Streptokokkenstämme durch Bildung von großen Schleimflocken aus, die mikroskopisch aus durchs ganze Gesichtsfeld gehenden Riesenketten bestehen. Bei 3 monatelanger Fortzüchtung blieb dieses charakteristische Merkmal bei 8 Stämmen erhalten, es war aber nur in Aszites- oder Serumbouillon konstant nachweisbar. Wie wir bei wiederholter Prüfung unserer übrigen, andersartigen Streptokokkenstämme feststellen konnten, kommt diesen die Fähigkeit zur Schleimflocken- und Riesenkettenbildung niemals zu. Daher glauben wir mit Thalmann und Heim (21, 22), die Streptokokken, welche in Aszitesbouillon Schleimflocken und Riesenketten bilden, als „Streptococcus longissimus" bezeichnen zu dürfen.

Zusammenfassend geht aus unseren Untersuchungen über das Wachstum der Streptokokken in Fleischbrühe

hervor, daß das makroskopische Aussehen der Bouillonkultur für keine Streptokokkenart, das der Aszitesbouillonkultur nur für den Streptococcus longissimus ohne die gleichzeitige Anwendung anderer Differenzierungsverfahren eine sichere Diagnose erlaubt.

4. Die Morphologie der Streptokokken.

Wir haben schon früher (Abschnitt 1) darauf hingewiesen, daß die Kokkenform weitgehend vom Nährboden abhängig ist, und daß die Zuteilung eines Kokkenstammes zu der Gattung der Streptokokken auf Grund morphologischer Merkmale oft Schwierigkeiten macht.

von Lingelsheim (23) legt seiner Klassifizierung der Streptokokken die Kettenlänge und Kapselbildung zugrunde. Beides sind aber nur bei gewissen Nährböden konstante Merkmale. v. Lingelsheim bezieht die Kettenlänge auf die Aszitesbouillonkultur. Auch nach unseren Untersuchungen ist das mikroskopische Bild der Ascites-, Blut- oder Serumbouillonkultur differential-diagnostisch bedeutsam. Unschwer sind in Aszitesbouillon die durch das ganze Gesichtsfeld gehenden Riesenketten des Strept. longissimus zu erkennen. Eine sichere Differenzierung der kurzkettigen Pneumokokken, Milchstrept., Mucosus- und Pyogenes-Streptokokken dürfte aber nach unseren Erfahrungen auf Grund des mikroskopischen Bildes nicht immer möglich sein, mögen auch einzelne Kulturen noch so typisch erscheinen. Die Kapselbildung erwies sich uns bei den Pneumokokken nur konstant für den Tierkörper (Milz, Herzblut), beim Strept. mucosus konnten wir sie konstant nur auf der feuchten Blutagarplatte nachweisen, sie fehlte hier verschiedentlich in Bouillon und in infizierten Organen der Maus. Sämtliche 100 Streptokokkenstämme, die wir wiederholt in Fleischbrühe, Milch, Blutagar- und Agarkulturen mikroskopisch prüften, wechselten ihre Kokkenform und Kettenlänge mit dem Nährboden. Diese Tatsache kann nicht genug betont werden; denn wiederholt wurde der Versuch gemacht, morphologische Verschiedenheiten, die beim Ueberimpfen auf andere Nährböden beobachtet werden konnten, zum Beweis für gelungene Umzüchtung heranzuziehen (Rosenow, 3; Demmer, 4).

Im Gram-Präparat des frischen Eiterausstrichs ist der Streptococcus mucosus manchmal als solcher zu erkennen. Er bildet hier vielfach längere Ketten, bestehend aus dicken, runden Kapselkokken, die nach Wittmaack mit Fliegenmaden vergleichbar sind. Daß aber die mikroskopische Diagnose des Strept. muc. nicht immer richtig war, und daß uns auch die Wittmaacksche Thioninfärbung (24) noch einer Nachprüfung auf ihre Spezifität bedürftig erscheint, haben wir ausführlich schon an anderer Stelle auseinandergesetzt (25). Für 21 Stämme von Strept. mucosus, die wir längere Zeit beobachteten, ließ sich ein einheitlicher morphologischer Typus nicht aufstellen. Dasselbe berichtet Arzt (26) von seinen Mucosus-Stämmen. Wir sahen bei unseren Schleim bildenden Stämmen morphologisch alle Uebergänge zu den Pneumokokken, auch der gleiche Mucosus-Stamm bildete im Laufe der Fortzüchtung zuweilen bald Fliegenmadenketten, bald Diplokokken von der Gestalt des typischen Diplococcus lanceolatus. Ebenso möchten wir auch vor der nur auf mikroskopischem Wege gestellten Diagnose der Pneumokokken warnen. Denn wie uns zahlreiche Beispiele zeigten, sind

nicht alle zugespitzten Kapseldiplokokken echte Pneumokokken. Bitter (27) fand in zahlreichen Se- und Exkreten, insbesondere auch in Rachenabstrichen von Säuglingen und Erwachsenen, niemals Pneumokokken. Auch wir konnten in Rachenabstrichen und Sputis, soweit sie nicht von Pneumoniekranken stammten, niemals echte Pneumokokken nachweisen.

Im Ganzen teilen wir auf Grund eingehender morphologischer Studien die Ansicht Schottmüllers (28), „daß eine Artunterscheidung der verschiedenen Streptokokken im allgemeinen und insbesondere der menschenpathogenen morphologisch nicht möglich ist“.

5. Das Wachstum der Streptokokken in Milch.

Die Bedeutung der Streptokokken für die Milchgerinnung hat zuerst Kruse (29) erkannt. Er möchte die lanzettförmigen, milchgerinnenden Streptokokken unter der Bezeichnung Strept. „lacticus“ zusammenfassen (30), und nimmt eine innige Verwandschaft dieser Gruppe zu den Pneumokokken an. Auf S. 65 seiner Einführung in die Bakteriologie (1920) führt Kruse folgendes aus: „Bei näherem Zusehen wird die Verwandtschaft der beiden Bakterienarten (nämlich Pneumokokken und Strept. lacticus) immer deutlicher, und selbst ihre Leistungen stimmen insofern überein, als der Pneumokokkus nichts weiter ist als ein Milchsäurekokkus, der nur zugleich große Ansteckungskraft besitzt. Auch der Strept. pyogenes ist ein Milchsäurekokkus mit ansteckenden Eigenschaften. Die Verwandtschaft wird noch dadurch verstärkt, daß sich offenbar Uebergänge zwischen diesen drei Hauptarten von Streptokokken finden“.

Dagegen gibt Heim (31) in der Lackmusmilch einen Nährboden zur Differenzierung des Strept. lactis von den Pneumokokken an. Seine Befunde werden von Bitter und Buchholz bestätigt (32).

Eigene Untersuchungen über das Verhalten unserer 100 fortgezüchteten Streptokokkenstämme in Milch führten bei 3—4maliger Wiederholung in monatlichem Abstand zu folgenden Ergebnissen:

1) Gerinnung nach 1—2 Tagen bewirkten a) sämtliche Milchstreptokokken, b) sämtliche Viridans-Strept., c) sämtliche Longissimus-Strept., d) sämtliche Pneumokokken, e) einzelne Stämme hämol. Streptokokken, f) sämtliche Mucosus-Strept., g) der von uns beobachtete Stamm des Strept. pleomorphus. Die Fähigkeit zur Milchgerinnung blieb bei allen Stämmen trotz monatelanger Fortzüchtung konstant.

2) Verzögerte Gerinnung nach 4—10 Tagen bewirkten einzelne Stämme hämolytischer Streptokokken. Diese Stämme waren sämtlich stark virulent für die weiße Maus und zeigten eine hohe Vermehrungsgeschwindigkeit im Schottmüllerschen Bakterizidieversuch. Mit dem Verlust der Virulenz ging nach längerer Fortzüchtung auch die Fähigkeit zur Milchgerinnung verloren. Unterschiede zwischen virulenten und avirulenten Streptokokkenstämmen fanden auch Rosenthal und Patai (33), und zwar in dem Sinne, daß erstere mehr Aminosäuren abspalteten. Im Uebrigen stimmen unsere Befunde über das Verhalten der Streptokokken in Milch mit der Literatur fast ausnahmlos überein.

Neutralrotmilch. Manche Streptokokkenarten bewirken, wie Gordon (34) feststellen konnte, eine Reduktion des Neutralrotes.

Uns hat sich ein Zusatz von 1 ccm einer 5proz. wässerigen Neutralrotlösung zur Milch für die Differentialdiagnose der Streptokokken bewährt. Durch diesen Zusatz von Neutralrot wird nach unseren Feststellungen die Gerinnung bei virulenten hämolytischen Streptokokken verhindert.

Lackmusmilch. Einen großen Fortschritt für die Erkennung bestimmter Streptokokkenarten bedeutet, wie schon erwähnt, die Modifizierung der Milchgerinnung durch Zusatz von Lackmuslösung (Heim). Noch besser als die Heimsche Lackmusmilch mit 7proz. Lackmuslösung bewährte sich uns für die Streptokokken-Differenzierung ein Zusatz von 15proz. und stärkere Alkalisierung (Zusatz von 5 Proz. einer 10proz. Sodalösung).

Malachitgrünmilch. Außerdem war uns für die Differentialdiagnose der Streptokokken Milch mit 3 Proz. einer wässerigen Malachitgrünlösung, deren Farbstoff durch Kochen mit 10proz. Sodalösung reduziert worden war, ein unentbehrliches Hilfsmittel. Denn einzelne Streptokokkenarten haben die Fähigkeit, die bräunliche Malachitgrünmilch nach einigen Tagen intensiv grün zu färben. Ueber das Verhalten der einzelnen Streptokokkenarten in der Neutralrot-, Lackmus- und Malachitgrünmilch findet sich näheres im Abschnitt 8; die genaue Zusammensetzung dieser Milchnährböden wird im 7. Abschnitt unserer Arbeit ausführlich besprochen werden.

Zusammenfassend führten unsere Untersuchungen über das Wachstum der Streptokokken in Milch zu dem Ergebnis, daß ein Teil der Milchstreptokokken mit Sicherheit allein durch die Lackmusmilch (erst weiß, dann rot) von den übrigen unterschieden werden kann. Neutralrot-, Lackmus- und Malachitgrünmilch sind brauchbare Nährböden für die Differenzierung der Streptokokken.

6. Das Verhalten der Streptokokken zu den Kohlehydraten und zur Galle.

Mit dem Verhalten der Streptokokken zu den Kohlehydraten beschäftigt sich eine umfangreiche Literatur, die aber in ihren Ergebnissen recht widerspruchsvoll ist [Literatur bei Salomon (35) und im Handbuch von Kolle-Wassermann (4; 1912)]. Allgemeine Anerkennung hat lediglich die wachstumsfördernde Wirkung des Traubenzuckers gefunden.

Die Widersprüche über den Einfluß der Kohlehydrate auf das Streptokokkenwachstum erklären sich nach unserer Erfahrung größtenteils dadurch, daß dieser sich je, nach dem Nährboden, dem die Kohlehydrate zugesetzt wurden, ganz verschieden äußert. Dasselbe konnten wir auch für das Neutralrot feststellen: Während der Strept. viridans z. B. Neutralrot in Agar nicht verändert, reduziert er Neutralrot in Milch. Die Milch bietet den menschenpathogenen Streptokokken, die an den Eiweißgehalt der Nährböden erhebliche Ansprüche stellen, die nötigen Eiweißstoffe, und für vergleichende Prüfungen irgendwelcher Zusätze darf man diese nur solchen Nährböden zufügen, die an und für sich allen zu prüfenden Keimarten optimale Wachstumsbedingungen bieten.

Diesen Ansprüchen der menschenpathogenen Streptokokken werden die in der Literatur genannten, mit Kohlehydratzusatz versehenen Nähr-

boden fast alle nicht gerecht: Nieter (36) prüfte Barsiekowlösungen, Gordon (37) Bouillon, Baumgarten (38) Lackmusagar und Lackmusbouillon mit Kohlehydratzusatz bei Streptokokken. Salomon (l. c.) verglich Strichkulturen auf Kohlehydrathaltigem Lackmus-Ascites-Agar. Er fand hauptsächlich Unterschiede zwischen Arabinose, Glyzerin, Mannit, Raffinose und Amylum solubile. Dextrose, Lävulose, Maltose und Saccharose ließen kaum Verschiedenheiten erkennen. Pasquale (39) und Libmann (40) berichten, daß einige stark Säure bildende Streptokokken auf Traubenzucker haltigem Agar eine eigentümliche Veränderung hervorrufen, die zunächst als Trübung auftritt und weiterhin den Agar in eine weißliche, undurchsichtige Masse verwandelt. Nach E. Fränkel (41) hat auch der Streptococcus viridans diese Eigenschaft. Natvig (42) beobachtete dieselbe Erscheinung, die er in Uebereinstimmung mit von Lingelsheim (43) auf Eiweißfällung zurückführt. Da wir selbst die beschriebene Trübung des Traubenzuckeragars bei einigen Streptokokkenarten regelmäßig (Strept. viridans b), bei anderen häufig (Strept. lactis), bei wieder anderen niemals (Strept. pyogenes) feststellen konnten, möchten wir derselben eine gewisse differentialdiagnostische Bedeutung zuerkennen. (Näheres darüber findet sich im 7. und 8. Teil unserer Arbeit.)

Den milchzuckerhaltigen Drigalski-Agar empfahl E. Fränkel (14) für die Differenzierung der Streptokokken. Nach seinen Angaben wachsen auf diesem Nährboden Pneumokokken zart blau, Mucosus-Streptokokken schleimig blau, hämolys. Strept. langsam rötend und Viridans-Streptok. mit intensiver Rotfärbung. Diese Beobachtungen Fränkels wurden von Schultze (45) bestätigt. Wenn wir selbst üppiges, rotes Wachstum auf Drigalski-Agar auch mehr für ein charakteristisches Zeichen der meisten Milchstreptokokken halten, stimmen wir Fränkel darin bei, daß der Drigalski-Agar vor allem in Kombination mit anderen Nährböden ein wertvolles Differenzierungsmittel für Streptokokken ist. (Näheres Abschnitt 8.) Im wesentlichen gleiche Ergebnisse wie mit Drigalski-Agar erhielten wir mit der von Bitter (46) zur Unterscheidung der Pneumokokken von Milchstreptokokken angegebenen Milchzuckerbouillon.

Während die auf Drigalski-Agar zart blau wachsenden Pneumokokken Milchzuckerbouillon kaum verändern, bilden die Drigalski-Agar stark rötenden Milchstreptokokken darin einen erheblichen Bodensatz. Wir gaben als Milchzucker haltigem Nährboden für die Differenzierung dem Drigalski-Agar aus äußeren Gründen den Vorzug.

Nachdem wir uns von der Brauchbarkeit des Drigalski-Agars für die Differenzierung der Streptokokken überzeugt hatten, ersetzten wir in ihm den Milchzucker durch Dextrose, Mannit, Maltose, Glyzerin, Saccharose und Amylum solubile. Strichkulturen mit 100 Streptokokkenstämmen verschiedenster Art zeigten aber sowohl zwischen diesen Kohlehydraten als auch gegenüber dem Drigalski-Agar mit Milchzucker keine wesentlichen Unterschiede.

Da wir bei unseren Untersuchungen mit Lackmusmilch die Erfahrung gemacht hatten, daß die meisten Streptokokkenarten darin üppig wachsen, versuchten wir, durch Zusatz von Kohlehydraten zur Lackmusmilch Säurebildung und Gerinnung zu beeinflussen. Dabei ergaben sich bei gleichen Streptokokkenstämmen typische Unterschiede zwischen einzelnen Kohlehydraten; auch verhielten sich nicht alle Streptokokkenarten gleich. Unsere Befunde über das charakte-

ristische und differentialdiagnostisch bedeutsame Verhalten der einzelnen Streptokokkenarten zu den von uns geprüften Zuckern Arabinose, Dextrose Glyzerin, Mannit, Maltose, Laktose, Raffinose, Saccharose, Stärke werden im 8. Abschnitt mitgeteilt werden.

Die genaue Zusammensetzung und Bereitung der Arabinose-, Glyzerin-, Dextrose- und Laktose-Lackmusmilch, kohlehydrathaltiger Milchnährböden, die wir besonders zur Streptokokken-Differenzierung empfehlen möchten, wird im nächsten Abschnitt ausführlich behandelt werden.

Die Auflösung der Pneumokokken durch Galle und taurocholsaures Natrium beschreibt Neufeld (47); häufig sah er großklumpige Agglutination als Vorstadium der Auflösung oder als erste Andeutung einer spezifischen Beeinflußbarkeit durch Galle. Avirulente Pneumokokken werden nach Neufeld nicht gelöst; Virulenz und Gallelöslichkeit gehen in der Regel, aber nicht immer, parallel. Andere Autoren versuchen auf Grund der Gallelöslichkeit eine Unterscheidung der Pneumokokken von den übrigen Streptokokken.

Eigene Untersuchungen über die Gallelöslichkeit von 171 Streptokokkenstämmen verschiedenster Art zeitigten folgende Ergebnisse:

1) Rindergalle verschiedener Tiere ist in ihrer Wirkung nicht immer konstant. Dagegen liefert eine 3proz. Lösung von taurocholsaurem Natrium konstante Ergebnisse. — 2) Die Löslichkeit in Galle und in taurocholsaurem Natrium ist ein konstantes Merkmal bestimmter Streptokokkenarten (Pneumokokken, Strept. mucos.). Auch wir konnten oft eine Zusammenklumpung vor der Auflösung feststellen. Keiner unserer Pneumokokken- oder Strept. mucosus-Stämme wurde, auch nicht nach monatelanger Fortzüchtung auf Blutagar, avirulent oder verlor die Löslichkeit in taurocholsaurem Natrium. Eine sichere Abtrennung der Milchstreptokokken auf Grund der Gallelöslichkeit ist aber nicht möglich, da auch manche Milchstreptokokken von Galle gelöst werden. (Technisch führten wir unsere Prüfungen so aus, daß wir 1 Oese 24stdig. Blutagarkultur in $^1/_2$ ccm Galle verrieben und nach 24 Std. im hängenden Tropfen betrachteten). — 3) In einfacherer Weise läßt sich die Galleempfindlichkeit verschiedenster Streptokokkenarten beurteilen durch Impfen in Pepton-Traubenzucker-Lackmusmilch, der 1proz. bzw. 3proz. taurocholsaures Natrium zugesetzt wurde. Da dieser Nährboden (ohne taurocholsaures Natrium) nach unseren Feststellungen von allen Streptokokkenarten mit Ausnahme des Strept. aërogenes in 1—5 Tagen sichtbar verändert wird, bleibt je nach der Gallenempfindlichkeit der eingeimpften Keime bei Zusatz von taurocholsaurem Natrium jede Veränderung aus, oder es kommt trotzdem zur Rötung und Gerinnung. Näheres über das typische Verhalten der einzelnen Streptokokkenarten in der Pepton-Traubenzucker-Lackmusmilch mit taurocholsaurem Natrium findet sich im 7. und 8. Teil unserer Arbeit.

Zusammenfassend führten unsere Untersuchungen über das Verhalten der Streptokokken zu den Kohlehydraten und zur Galle zu dem Ergebnis, daß sowohl Zusatz von Kohlehydraten wie von Galle Säurebildung und Gerinnung der Lackmusmilch wesentlich beeinflussen können. Es ergaben sich nicht nur Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Kohlehydrate gegen-

über der gleichen Streptokokkenart, sondern auch Unterschiede im Verhalten der verschiedenen Streptokokkenarten gegenüber dem gleichen Kohlehydrat. Das Verhalten zu den Kohlehydraten Arabinose, Dextrose, Glycerin, Lactose und die Empfindlichkeit für Galle bzw. taurocholsaures Natrium sind typische und konstante Merkmale der einzelnen Streptokokkenarten.

7. Differenzierungsmethoden und Differentialnährböden für die Artunterscheidung der Streptokokken.

Aus den Veröffentlichungen der letzten Jahre über die Streptokokkenfrage gewinnt man den Eindruck, als ob sich die typischen Arten einerseits nicht sicher voneinander unterscheiden und andererseits leicht ineinander überführen ließen. Aber alle Autoren, die diese Ansicht vertreten, können sich nur auf die Variation eines einzigen Merkmals berufen. Kuczynski und Wolff (8) und ebenso Schnitzer (48) halten lediglich auf Grund des Hämolyseverlustes auf der Blutplatte den experimentell geschädigten Streptococcus pyogenes für identisch mit dem Streptococcus viridans (Schottmüller); sie beachten aber nicht, daß der Strept. viridans auch sonst noch biologische Verschiedenheiten aufweist (Milchgerinnung!). Demmer (4) möchte allein aus der Variation der Kokkenform den weitgehenden Schluß auf Arteinheit der verschiedenen Streptokokken ziehen.

Die hier zu beschreibenden Differenzierungsmethoden haben sich uns für die Artunterscheidung der Streptokokken bewährt. Es sind größtenteils bekannte, wenn auch scheinbar in Vergessenheit geratene, zum Teil aber auch eigens zusammengestellte Verfahren und Nährböden, die kombiniert eine sichere Einteilung der Streptokokken erlauben und zwar in grundsätzlich verschiedene Arten, deren wechselseitige Umzüchtung uns, wie wir später noch ausführen werden, bisher nicht gelungen ist.

Bei der Empfindlichkeit insbesondere der für Menschen pathogenen Streptokokken dürfen für Prüfungen irgendwelcher Art nur wirklich lebensfrische Keime verwendet werden. Denn da wir den menschenpathogenen Streptokokken niemals optimale Nährböden bieten können, und da auf nicht optimalen Nährböden das Wachstum nur sehr spärlich erfolgt, wenn wir sie mit geschädigten Keimen beschicken, sollte man die Verhältnisse nicht dadurch komplizieren, daß man die Nährböden einmal mit lebensfrischen und dann wieder mit geschädigten Keimen beimpft. Wie uns zahlreiche Versuche gezeigt haben, bietet weder die 24stdig. Bouillon-, noch Serum- oder Ascites-Bouillon, noch Ascites-Agarkultur, sondern nur die 16—20-stdig. Strichkultur auf Schottmüllerschem Blutagar die unerläßliche Voraussetzung, daß man auch wirklich von lebensfrischen Keimen ausgeht. Daher sind die folgenden Differentialnährböden, falls nicht anders angegeben, mit einer kleinen Oese 16—20stdig. Blutagarstrichkultur zu beimpfen. Es muß ausdrücklich betont werden, daß eine Impfung mit Keimen älterer Kultur oder eines anderen Ausgangsnährboden u. U. zu ausbleibenden oder abgeschwächten Reaktionen führen kann, die gerade die charakteristischen Merkmale vollkommen vermissen lassen.

1. Strichkultur auf Schottmüllerschem Blutagar.

Herstellung: Röhrchen mit 5 ccm verflüssigtem Agar auf 45° abkühlen, mit 2 ccm Menschenblut mischen und zur Platte ausgießen. Blutplatten erst 24 Std.

in feuchter Kammer bebrüten, keine zu trockenen Platten verwenden (Schottmüller 12, 13). Zur Plattenersparnis können die Schalen auf der Rückseite mit Farbstift in 8 Sektoren eingeteilt werden.

Impfung: Jeder Sektor wird gesondert mit einer Oese 20stünd. Blutagarkultur strichweise beimpft. Die Strichkultur auf Blutagar ist jeweils noch 2mal in 24stünd. Abstand zu wiederholen; denn geschädigte Stämme zeigen zunächst atypisches Wachstum (vgl. Abschnitt 2). Erst von der 3. Strichkultur werden die übrigen Nährböden beschickt. Die 3. Strichkultur ist für die Beurteilung der Wachstumsart maßgebend.

Zu achten ist nach 24 Std. auf 1) Hofbildung, 2) Farbe und Größe der Kolonien, 3) Farbe des Nährbodens, 4) Schleimbildung.

2. Strichkultur auf Agar bei 23° und 36°.

Herstellung: Nähragar ohne Serum- oder Asziteszusatz.

Impfung: 2 Röhrchen werden gleichzeitig strichweise beimpft. Davon kommt das Röhrchen 1 für 3 Tage in den Brutschrank von 23°. Das 2. Röhrchen wird zunächst 24 Std. im 36er Brutschrank bebrütet und dann die nächsten 2 Tage zu dem 1. Röhrchen in den 23er Brutschrank gestellt.

Zu achten ist nach 3 Tagen auf 1) Kolonienform und Farbe von Röhrchen 2, 2) die Ueppigkeit des Wachstums der beiden Röhrchen im Vergleich zueinander (kein Wachstum bei 23°?).

3. Traubenzuckeragar in hoher Schicht.

Herstellung: 2proz. Traubenzuckeragar in Röhrchen zu je 10 ccm.

Impfung: 1 kleine Oese 20stünd. Blutagarstrichkultur in verflüssigtem und auf 40° abgekühltem Traubenzuckeragar fein verteilen.

Zu achten ist nach 8 Tagen auf 1) Trübung des Traubenzuckeragars (vgl. Abschnitt 6), 2) Zonenbildung (Zonen stärkeren oder geringeren Wachstums?).

4. Bouillon.

Herstellung: Nährbouillon ohne Aszites-, Serum- oder Zuckerzusatz.

Impfung: mit einer Oese Blutagarstrichkultur.

Zu achten ist nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt (36°) auf die Art des makroskopischen Wachstums (trüb, flockig?).

5. Aszitesbouillon.

Herstellung: Nährbouillon mit 10proz. Aszitesflüssigkeit.

Impfung: wie bei 4.

Zu achten ist nach 2tägigem Brutschrankaufenthalt bei 36° auf 1) die Art des makroskopischen Wachstums (Schleimflocken?), 2) die mikroskopische Form der Kokken und Ketten im Grampräparat (Riesenketten?).

6. Hämolyseprüfung in Blutbouillon.

Herstellung: In Glasröhrchen von 10 cm Höhe und 1 cm Durchm. (nicht anders!) werden 5 ccm Bouillon mit 2 Tropfen defibriniertem oder Citrat-Menschenblut (14 ccm Blut: 6 ccm 5proz. Zitratlösung) gemischt. Die Höhe der Blutbouillonsäule betrage 4—5 cm. Voraussetzung für einen einwandfreien Ausfall der Probe ist eine derartige Beschaffenheit der Blutbouillonmischung, daß die Blutkörperchen sich innerhalb von 20 Std. vollkommen zu Boden senken. Man überzeuge sich erst hiervon im Vorversuch.

Impfung: Sofort (!) nach der Mischung von Blut und Bouillon wird jedes Röhrchen mit einer Nadelspitze 20stünd. Blutagarkultur geimpft und kommt dann für 24 Std. in den 36er Brutschrank. Nicht mehr aufschütteln!

Zu achten ist nach 24 Std. auf Hämolyse.

Die beschriebene Hämolyseprüfung in Blutbouillon führten wir bei 171 verschiedenen Streptokokkenstämmen und bei der Mehrzahl davon sogar wiederholt (3—4mal) aus. Wir erhielten immer eindeutige und konstante Ergebnisse. Unter anderem reagierten alle Viridans-Streptokokken negativ, alle Pyogenes-Streptokokken positiv und zwar auch die experimentell vergrünten positiv, soweit sie überhaupt noch wachstumsfähig waren.

7. Drigalski-Agar.

Herstellung: Nach Originalvorschrift.

Impfung: Impfstrich mit einer Oese Blutagarkultur.

Zu achten ist nach 24stünd. Brutschrankaufenthalt (36°) auf die Ueppigkeit und Farbe der Kolonien.

8. Hitzeresistenz.

Röhrchen mit 10 ccm verflüssigtem 2proz. Traubenzuckeragar werden im Wasserbad von 60° mit einer Oese Blutagarkultur geimpft. Sie bleiben 15 Min. bei 60° im Wasserbad.

Zu achten ist nach 8tägigem Brutschrankaufenthalt (36°) darauf, ob noch Wachstum erfolgte.

9. Lackmusmolke.

Herstellung: Nach Originalvorschrift (Petruschky).
Impfung: Mit einer Oese Blutagarkultur.
Zu achten ist nach 1, 2, 4, 6 und 8 Tage langem Brutschrankaufenthalt (36°) auf Rötung.

10. Neutralrotmilch.

Herstellung: Zu 100 g sterilisierter, entrahmter Milch*) füge man hinzu 1 ccm einer Aufschwemmung von 0,5 g Neutralrot (Ehrlich) in 10 ccm Wasser. Kurz aufkochen und in Röhrchen zu je 7 ccm abfüllen. Die abgefüllten Röhrchen werden noch 2mal in 24stünd. Abstand je 1/2 Std. im Kochschen Dampftopf sterilisiert.

Impfung mit einer Oese Blutagarkultur.

Zu achten ist nach 1, 2, 4, 6, 8tägigem Brutschrankaufenthalt (36°) auf Reduktion und Gerinnung.

11. Malachitgrünmilch.

Herstellung: Zu 100 ccm steriler, entrahmter Milch (*) gebe man hinzu 3 ccm einner wässrigen Lösung von Malachitgrün (1:60) und 12 ccm einer 10proz. Sodalösung. Die Mischung wird 2 Stad. lang im Kölbchen einer Temperatur von 100° ausgesetzt (Dampf oder Wasserbad).

Sollte die grüne Farbe nach dieser Zeit noch nicht vollständig nach dem Erkalten verschwunden sein, so füge man unter Kochen noch einige Tropfen Sodalösung zu, bis kein grüner Farbton mehr sichtbar ist und die Masse eine hellbräunliche Färbung angenommen hat. Sodann Abfüllen in Röhrchen zu je 5 ccm, die noch einmal 3/4 Std. im Dampf sterilisiert werden. Die fertige Malachitgrünmilch soll in den Röhrchen von hellbrauner Farbe und ohne Gerinnsel sein.

Impfung: Mit einer Oese Blutagarkultur.

Zu achten ist nach 1, 2, 4, 6, 8tägigem Brutschrankaufenthalt (36°) auf Grünfärbung und Gerinnung.

12. Lackmusmilch.

Herstellung: 100 ccm steriler, entrahmter Milch (*) werden mit 15 ccm Lackmuslösung (Kahlbaum) und mit 5 ccm steriler Sodalösung (10 Proz.) versetzt. Mischen im sterilen Kölbchen und Abfüllen in sterile Röhrchen zu je 7 bis 10 ccm. Die abgefüllten Röhrchen werden 20 Min. im Dampf sterilisiert, aber unter keinen Umständen länger oder öfter; denn die Lackmuslösung verträgt längeres Erhitzen nicht. Vor Gebrauch erst 8 Tage lang im Brutschrank auf Sterilität prüfen.

Impfung: Mit einer Oese Blutagarkultur.

Zu achten ist nach 1, 2, 4, 6, 8tägigem Brutschrankaufenthalt auf Rotfärbung und Gerinnung.

13. Dextrose-Lackmusmilch.

Herstellung: 100 ccm steriler, entrahmter Milch (*) werden im sterilen Kölbchen versetzt mit 15 ccm Lackmuslösung, 5 ccm Sodalösung (10 Proz.) und mit 2,0 g Dextrose. Im übrigen wie bei der Lackmusmilch 12.

*) Das Sterilisieren der Milch macht oft Schwierigkeiten; denn bei längerem Einwirken höherer Temperaturen werden die Eiweißstoffe verändert (vor allem im Autoklaven). Im allgemeinen genügte folgendes Verfahren: Die möglichst frisch bezogene Marktmilch wurde sofort 3/4 Std. im Dampftopf sterilisiert. Sodann blieb sie im 3/4 Liter-Kolben 2 Tage lang bei Zimmertemperatur stehen, die während dieser Zeit gebildete Rahmschicht wurde entfernt und die Milch noch einmal im Kolben 3/4 Std. lang im Dampf sterilisiert. Die so vorbehandelte Milch fand dann für die Nährböden Verwendung. Die fertigen Milchnährböden werden zunächst 8 Tage lang im Brutschrank auf Sterilität geprüft; denn wie auch Heim (49) feststellen mußte, läßt sich ein gewisser Ausfall durch Sporenträger (ca. 5 Proz.) meistens nicht vermeiden.

14. Laktose-Lackmusmilch.

Herstellung: 100 ccm steriler, entrahmter Milch (*) werden in sterilem Kölbchen versetzt mit 15 ccm Lackmuslösung, 5ccm Sodalösung und 10,0 g Laktose. Im übrigen wie bei der Lackmusmilch 12.

15. Arabinose-Lackmusmilch.

Herstellung: 100 ccm steriler, entrahmter Milch (*) werden in sterilem Kölbchen versetzt mit 7 ccm Lackmuslösung und mit 2,0 g Arabinose. Im übrigen wie bei der Lackmusmilch 12.

Zu achten ist bei der Arabinose-Lackmusmilch nur auf Gerinnung.

16. Glyzerin-Lackmusmilch.

Herstellung: 100 ccm steriler, entrahmter Milch (*) werden versetzt mit 7 ccm. Lackmuslösung und mit 10 ccm Glyzerin. Sonst wie bei der Lackmusmilch 12.

17. Pepton-Traubenzucker-Lackmusmilch mit Taurocholsaurem Natrium.

Herstellung: 100 ccm steriler, entrahmter Milch werden unter leichtem Erwärmen in sterilem Kölbchen versetzt mit 15 ccm Lackmuslösung, 5 ccm Sodalösung (10 Proz.), 3,0 g Pepton (Witte), 2,0 g Traubenzucker und mit 1,25 g (= 1 Proz.) bzw. 3,75 g (= 3 Proz.) taurocholsaurem Natrium. Nachdem alles gelöst ist, wird die Mischung zu je 5 ccm in Röhrchen abgefüllt und 20 Min. lang (nicht länger!) im Dampf sterilisiert. Während die Milch in den Röhrchen mit 1proz. taurochols. Natrium in Emulsion bleibt, fällt in den Röhrchen mit 3 Proz. das Eiweiß beim Sterilisieren aus und bildet in der Kuppe des Reagenzglases ein festes Gerinnsel unter der klaren blaugefärbten Molke. Im übrigen wie bei der Lackmusmilch 12.

18. Pathogenität für weiße Mäuse.

Weiße Mäuse werden nach kleinem Scherenschnitt in die Haut über der Schwanzwurzel subkutan mit einer Oese 20stündiger Blutagarstrichkultur geimpft.

Zu achten ist 1) auf die lokale Gewebereaktion an der Impfstelle (lokale Phlegmone?), 2) auf die Zeitdauer bis zum Exitus (akute oder chronische Infektion?), 3) auf den mikroskopischen und kulturellen Befund in Herzblut und Milz.

19. Baktericidie-Versuch.

Die von uns angewandte Technik des Baktericidieversuches ist eine etwas vereinfachte Form der Schottmüllerschen Originalmethode (50), wie sie auch Philipp (51) schon in ähnlicher Weise für seine Virulenzprüfungen befolgt hat. Wir verteilten eine Nadelspitze 20stündiger Blutagarstrichkultur in 10 ccm Bouillon und mischten von dieser Verdünnung 1 Oese mit 2 ccm frischen, defibriniertem, gesunden Menschenblut. Davon wird 1 ccm sofort zur Platte 1 verarbeitet; die andere Hälfte kommt für 4 Std. in den Brutschrank, um dann zur Platte 2 verarbeitet zu werden. Nach 48stdig. Brutschrankaufenthalt werden die Kolonien beider Platten gezählt. Der Quotient Kolonienzahl auf Platte 2: Kolonienzahl auf Platte 1. von uns als „Vermehrungsfaktor“ bezeichnet, gibt an, um das wievielfache sich die Keime in 4 Std. im Menschenblut vermehrt, bzw. vermindert haben. Bei richtiger Verdünnung wachsen auf der Platte 1 etwa 100 Kolonien. Schottmüller konnte feststellen, daß man bei Keimzahlen über 2000 im ccm Blut gelegentlich abweichende Resultate erhält. Wir selbst prüften auf diese Weise 171 Streptokokkenstämme, und zwar zum Teil wiederholt. Unsere Ergebnisse waren stets einwandfrei und stimmten, soweit wir vergleichende Untersuchungen anstellten, im wesentlichen mit den Ergebnissen der Schottmüllerschen Originalmethode überein. Abweichungen sahen wir bei nicht- oder schwach virulenten Pyogenes-Stämmen, die, wie wir später noch sehen werden, sich in den ersten Std. zunächst vermindern. Für solche Stämme ist die Schottmüllersche Originalmethode mit ihrer 24stdig. Versuchsdauer zweifellos differential-diagnostisch zu bevorzugen.

20. Serologische Typentrennung der Pneumokokken.

Neufeld (52) konnte zuerst feststellen, daß das Serum künstlich mit Pneumokokken immunisierter Kaninchen für Pneumokokken gewisser Typen agglutinierend wirkte. In der Folge gelang im Rockefeller Institut (Avery, Dochez, Literatur bei Adler, 53) die Herstellung 3er Immunsera, die eine serologische Differenzierung der Pneumokokken in 4 Typen erlauben, wobei unter der Bezeichnung Typ 4 diejenigen Stämme zusammengefaßt werden, welche von keinem der 3 Sera agglutiniert

werden. Wir verdanken unsere 3 amerikanischen Sera der freundlichen Vermittlung von Herrn Geh.-Rat Krehl. Da uns nur beschränkte Serummengen zur Verfügung standen, prüften wir die Agglutination im hängenden Tropfen. Am günstigten waren die Ergebnisse, wenn wir 1 Oese 24stdig. Ascitesbouillonkultur mit 1 Oese Serum mischten. Einige Stämme (Strept. mucosus) zeigten schon nach wenigen Min. eine bereits makroskopisch erkennbare Agglutination mit einem der 3 Sera, andere erst nach 2stdig. Brutschrankaufenthalt. Ueber die Verteilung unserer Pneumokokkenstämme auf die einzelnen Typen findet sich Näheres im Abschnitt 8 unter Pneumokokken und Streptococcus mucosus.

Außer den genannten Differenzierungsverfahren finden sich in der Literatur noch manche andere, über deren Brauchbarkeit wir aber mangels eigener Erfahrung kein Urteil abgeben können. Erwähnen möchten wir wenigstens Bielings Blutwasseragar (54), Morgenroths Optochin- und Bitters Chininblauagar. Von Lingelsheim (55) sah bei einzelnen saprophytischen Streptokokken geringe Verflüssigung bzw. Erweichung der Gelatine. Unsere Streptokokkenarten ließen sämtlich die Gelatine unverändert. Uebereinstimmend mit den Ergebnissen der Literatur konnten wir Indolbildung bei keiner Streptokokkenart nachweisen.

Zusammenfassend sei noch einmal besonders hervorgehoben, daß nicht das eine oder andere der 20 angeführten Differenzierungsverfahren für sich allein, sondern nur ihre Kombination eine sichere Einteilung der Streptokokken in grundsätzlich verschiedene Arten gestattet.

8. Die Arteinteilung der Streptokokken.

Auf Grund der im vorigen Abschnitt beschriebenen Differenzierungsmethoden lassen sich unsere 171 Streptokokkenstämme in folgende Arten einteilen:

1) Strept. haemolyticus
   A Pyogenes a, b, c; B Pyogenes lentus.
2) Strept. viridans
   a (Schottmüller); b
3) Pneumokokken und Strept. mucosus.
   4 Typen.
4) Strept. longissimus.
5) Strept. pleomorphus.
6) Strept. lactis.
   a (Heim); b thermoresistent.
7) Streptococcus aërogenes.
8) Strept. anhaemolyticus.

An welchen Merkmalen diese Streptokokkenarten auf den Differentialnährböden zu erkennen sind, soll im Folgenden erörtert werden. Jeweils werden wir der Reihe nach bei den einzelnen Streptokokkenarten das Verhalten zu den 20 Differenzierungsmethoden beschreiben. Eine vergleichende Uebersicht gibt außerdem die folgende Tab. S. 282.

1. Strept. hämolyticus.

Typische Merkmale: 1) Hämolyse in Blutbouillon. — Variabilität der Virulenz und der Vermehrungsfähigkeit im Bakterizidie-Versuch.

Die hämolysierenden Streptokokken zerfallen nach unseren Feststellungen in zwei große Gruppen, nämlich in die des Strept.

Das Verhalten der verschiedenen Streptokokkenarten auf den wichtigsten Differentialnährböden.

	1. Str. haemol. Pyog.	1. Str. haemol. Lentus	2. Str. viridans a	2. Str. viridans b	3. Pneumoc. und Strept. mucosus	4. Longissimus	5. Pleomorph.	6. Str. lactis a	6. Str. lactis b	7. Aërogenese	8. Anhaem.
Blutagar (1)	Hämolyse	geringe Häm.	grün	grünlich	grün	grün	grünlich	farblos grünlich	farblos grünlich	farblos grünlich	farblos grünlich
Wachstum bei 23° auf Agar (2)	+	+	—	+	+	±	+	++	++	+	+
Traubenz.-Agar H. S. (3)	klar	trüb	meist klar	trüb	klar	klar	meist trüb	meist trüb	meist trüb	trüb	trüb
Aszites-bouillon mikrosk. (5)	kurze Ketten	kurze K.	kurze K.	kurze K.	kurze K.	Riesen-K.	kurze K. Stäbchen	kurze K.	kurze K.	kurze K.	kurze K.
Blutbouillon Hämolyse (6)	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hitzeresistenz 60° (8)	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Neutralrot-milch (10) Gerinnung	±	+	+	+	(±)	+	+	+	+	—	—
Malachitgrün-milch (11) Dunkelgrün?	—	+	+	+	+	—	+	(+)	+	—	(+)
Arabinose-L. Milch (15) In 1–14 Tag. Gerinnung?	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—
Milch mit taurochols. Na 1 Proz. In 1–2 Tag. rot? (17)	(+)	+	(+)	+	—	—	+	+	—	(+)	+
Bakterizidie-versuch Vermehrung in 4 Std.? (19)	virul. + avir. —	(±)	—	—	—	—	—	—	—	—	—

haemolyt. pyogenes und des Strept. haemolyt. lentus. Die folgende Tabelle veranschaulicht die charakteristischen Unterschiede:

	Strept. Pyogenes	Strept. haem. lentus
Blutagar	+ Hämolyse	(+) geringe Hämol.
Traubenz.-Agar h. S.	klar	getrübt
Taurochols. Na 3 Proz.[1]	unverändert	nach 24 Std. rot
Malachitgrünmilch	nach 4 Tagen unv.	nach 4 Tagen grün

1) Der Kürze halber bezeichnen wir hier und im Folgenden die im vorigen Abschnitt unter 17 genannte Pepton-Traubenzucker-Lackmusmilch mit taurochols. Natrium nur als „Taur. Natr. 1 Proz. bzw. Taur. Natr. 3 Proz.“.

A. Gruppe des Streptococcus pyogenes.

Hierzu gehören die hämolysierenden Streptokokken aus akuten eitrigen Prozessen. Sie verhalten sich aber zu den Milchnährböden nicht einheitlich. Wie wir nachher sehen werden, lassen sie sich ihrerseits wieder in 3 Unterarten a, b und c unterscheiden.

Uebereinstimmend haben die Pyogenes- Streptokokken a, b, c folgende Merkmale:

1) Blutagar: Ziemlich saftige, farblose, durchsichtige, immer leicht abstreifbare Kolonien. Nach anfänglicher Grünfärbung des Blutagars (nicht der Kolonien!) Hofbildung. Bei geschädigten Keimen oder auf zu trockenen Platten bleibt das Wachstum bei dem grünen Vorstadium der Hofbildung stehen („Pseudoviridans"). Nach 2—3maliger Ueberimpfung auf feuchte Blutagerplatten aber wieder ausgesprochene Hofbildung. — 2) Agar: Kleine, durchsichtige, später mehr grauweiße Kolonien. Wachstum bei 23° nicht wesentlich geringer als bei 36°. — 3) Traubenzuckeragar in hoher Schicht: Glasklar, niemals milchig trüb. — 4) Bouillon: In der Regel klar, unten flockig oder grieselig; zuweilen aber auch getrübt. — 5) Ascites-Bouillon: Mikroskopisch vorwiegend kurze Perlschnurketten, niemals durchs ganze Gesichtsfeld gehende Riesenketten. — 6) Blutbouillon: Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: Ziemlich saftig, geringe Rötung. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch $^1/_4$stdig. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Unverändert. — 11) Malachitgrünmilch: Unverändert. Ev. nach 6—8 Tagen schmutzig gelbgrün, niemals dunkelgrün. — 14) Laktose-Lackmusmilch: Nach 2—8 Tagen geringe Rötung oder unverändert. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Unverändert. Keine Gerinnung. — 17) Taurochols. Natrium 1 Proz.: Nach 1—8 Tagen Rötung, nie Gerinnung. — Taurochols. Natrium 3 Proz.: Ev. nach 6—8 Tagen geringe Rötung. — 18) Pathogenität: Je nach Virulenz werden weiße Mäuse nach 1—14 Tagen oder überhaupt nicht getötet. — 19) Bakterizidie-Versuch: Innerhalb 4 Std. je nach Virulenz Vermehrung oder Verminderung. Nach 24 Std. fast immer Vermehrung, nur bei hochgradig geschädigten Keimen Verminderung. — 20) Serologische Differenzierung: Amerikanische Arbeiten berichten über agglutinatorische Besonderheiten der Scharlachstreptokokken. Entsprechende Sera standen uns leider nicht zur Verfügung. In Deutschland ist bisher die Herstellung agglut. Scharlachstreptokokken-Sera nicht gelungen. Von agglut. Pneumokokkensera werden Pyogenes-Strept. innerhalb 2 Std. nicht, aber nach 24 Std. deutlich zusammengeklumpt.

Die beschriebenen Merkmale sind allen Pyogenes-Streptokokken gemeinsam. Unterschiede ergeben sich auf den in der obigen Aufzählung übergegangenen Differentialnährböden:

	Strept. pyog. a 79 Stämme	Strept. pyog. b 2 Stämme	Strept. pyog. c 1 Stamm
10. **Neutralrotmilch**	—	nach 2—4 Tag. Gerinnung, gelb	—
12. **Lackmusmilch**	nach 2—8 Tag. geringe Rötung	nach 2 Tag. rot	—
13. **Dextrose-Lackmusmilch**	„	„	nach 2—4 Tagen rot
14. **Glyzerin-Lackmusmilch**	—	—	nach 4—6 Tagen Gerinnung, blau

Kohlehydrate beeinflussen die Säurebildung der Pyogenes-Streptokokken in Lackmusmilch in folgender Weise (geprüft an allen 82 Stämmen):

1) Beschleunigung der Säurebildung durch 1—5proz. Dextrose, Laktose, Mannit, Maltose, Raffinose, Saccharose und Stärke. — 2) Ohne wesentlichen Einfluß auf die Säurebildung: 2—5proz. Glyzerin. — 3) Hemmung der Säurebildung durch 2proz. Arabinose, durch 10proz. Dextrose, Laktose, Mannit, Maltose, Glyzerin, Raffinose, Saccharose und Stärke.

Von unseren 79 Stämmen des Strept. pyogenes a stammten 5 aus Blut (Sepsis), 2 aus Liquor, 58 aus Eitern, 9 von akuten und chronischen Anginen, 2 von Scharlach-Anginen, 1 aus Erysipelblasen, 1 aus Sputum, 1 aus Nasensekret.

Von unseren 2 Stämmen des Strept. pyogenes b stammten beide aus Ohreitern (Akute Otitis media, Antrotomie).

Der Stamm des Strept. pyogenes c war durch Punktion aus einem peritonsillären Abszeß gewonnen.

B. Streptococcus haemolyticus lentus.

Der hier als Strept. haem. lentus bezeichnete Streptokokkentyp ist vielleicht identisch mit der von Hamm (56) unter demselben Namen beschriebenen Streptokokkenart. Unsere beiden Stämme wichen von den übrigen hämolysierenden Streptokokken in wesentlichen Punkten ab:

1) Blutagar: Zunächst grauweiße, anhämolytische Kolonien. Blutagar (nicht Kolonien) ev. leicht grünlich verfärbt. Tiefenkolonien grünlich, können mit Viridans-Kolonien verwechselt werden. Nach wochenlanger Fortzüchtung auf Blutagar zunehmende Hofbildung, aber deutlich nur auf Blutagar 1:10. Nach $^3/_4$-jähriger Fortzüchtung keine ausgesprochene Hofbildung auf Schottmüllerschem Blutagar (2:5). — 2) Agar: Kleine, durchsichtige Kolonien, Wachstum bei 23° nicht wesentlich schlechter. — 3) Traubenz.-Agar h. S.: Milchig getrübt. — 4) Bouillon: klar, am Boden kleine Flöckchen. — 5) Ascites-Bouillon: Mikroskopisch kurze Perlschnurketten, teilweise an Pneumokokken erinnernde ovale Kokkenform. — 6) Blutbouillon: Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: Ziemlich saftige Kolonien, Rötung. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch $^1/_4$stdig. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Unverändert. — 10) Neutralrotmilch: Nach 2—4 Tagen Gerinnung, nur geringe Reduktion. — 11) Malachitgrünmilch: Nach 2—4 Tagen grün. — 12) Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen rot. — 13) Dextrose-Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen rot, ev. Gerinnung. — 14) Laktose-Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen rot. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Keine Gerinnung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen rot, später in der Regel Gerinnung. — 17) Taurochols. Natrium 1 Proz.: Nach 24 Std. rot und Gerinnung. Taurochols. Natrium 3 Proz.: Nach 24 Std. rot. — 18) Pathogenität: Für weiße Mäuse nicht pathogen. — 19) Bakterizidie-Versuch: Nach 24 Std. Vermehrung. — Kohlehydrate beeinflussen die Säurebildung der haemolyticus-lentus-Streptokokken in derselben Weise wie die der Pyogenes-Streptokokken.

Von unseren beiden Stämmen des Strept. pyogenes lentus stammte der eine von einem Mandelabstrich (chronische Tonsillitis), der andere von einer Blutkultur (otogene Sepsis). Im letzten Falle wurden in den späteren Stadien der tödlich verlaufenen Sepsis außerdem hämolysierende Streptokokken des Typus pyogenes a nachgewiesen.

2. Strept. viridans.

Typische Merkmale: 1) Auf Blutagar grüne Kolonien und grüne Verfärbung des Nährbodens. — 2) Keine Hämolyse in Blutbouillon. — 3) Neutralrotmilch: Gerinnung. — 4) Malachitgrünmilch: grün. — 5) Nicht Hitzeresistent. — 6) Baktericidie-Versuch: immer Verminderung.

Die Viridans-Streptokokken zerfallen nach unseren Feststellungen in 2 Unterarten, nämlich in die des Strept. viridans a (= Schottmüller) und des Strept. viridans b. Die charakteristischen Unterschiede dieser beiden Viridansarten werden durch folgende Tabelle veranschaulicht:

	Strept. virid. (Schottm.) a	Strept. virid. b
Taurochols. Natrium 3 Proz.	—	nach 24 Std. rot
Wachstum bei 23°	—	+
Traubenz.-Agar H. S.	klar	milchig trüb

Streptococcus viridans a (Schottmüller).

Unsere Stämme des Strept. viridans a zeigten zwar in der Ueppigkeit des Wachstums und in der Intensität der Säurebildung

mancherlei Unterschiede, sie ließen sich aber auf folgende gemeinsame Merkmale festlegen:

1) Blutagar: Wachstum in den ersten Generationen nach der Reinzüchtung oft spärlich, zuweilen erst nach 48 Std. sichtbare Kolonien. Nach längerer Fortzüchtung Wachstum wesentlich schneller und üppiger. Die Kolonien selbst sind grün gefärbt; sie haften auf trockeneren Platten fest am Nährboden an. Intensive Grünfärbung des Blutagars. Manchmal bildet sich um die grüne Kolonie ein schmaler hämolytischer Saum. — 2) Agar: Kleine durchsichtige Kolonien, zuweilen in derselben Strichkultur von wachsender Größe. Niemals Wachstum bei 23°. — 3) Traubenz.-Agar H. S.: Glasklar, bei einzelnen Stämmen geringe Trübung. — 4) Bouillon: In der Regel zart getrübt, aber auch klar mit feinsten Bröckchen am Boden. — 5) Ascites-Bouillon: Mikroskopisch meist zarte kurze Kettchen, aber auch längere gewundene Ketten, niemals Riesenketten. — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: bald mehr, bald weniger üppiges Wachstum, geringe Rötung. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch $^1/_4$stünd. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Unverändert oder geringe Rötung. — 10) Neutralrotmilch: Nach 1—4 Tagen Gerinnung und Reduktion. — 11) Malachitgrünmilch: Nach 1—4 Tagen dunkelgrün, ev. Gerinnung. — 12) Lackmusmilch: Nach 1—4 Tagen rot, ev. Gerinnung und unten weiß (immer erst rot, dann unten weiß). — 13) Dextrose-Lackmusmilch: ebenso. — 14) Laktose-Lackmusmilch, ebenso 15) Arabinose-Lackmusmilch: In den ersten 4 Tagen niemals Gerinnung. Selten verspätete Gerinnung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Nach 1—4 Tagen rot, ev. Gerinnung. — 17) Taurochols. Natrium 1proz. Unverändert oder Rötung nach 2—8 Tagen, niemals Gerinnung. Taurochols. Natrium 3proz.: Unverändert. — 18) Pathogenität: für weiße Mäuse nicht pathogen. Bei solchen Tieren, die innerhalb der 3 monatelangen Beobachtungszeit eingingen, konnten niemals Streptokokken als Todesursache festgestellt werden. — 19) Bakterizidieversuch: Immer Verminderung, sowohl nach 4 als auch nach 24 Std.

Streptococcus viridans b.

Diese grünwachsenden Streptokokken können sehr leicht mit dem Strept. viridans (Schottmüller) verwechselt werden. Vermutlich ist auch ein Teil der widerspruchsvollen Beschreibungen des Strept. viridans (Schottmüller) darauf zurückzuführen, daß die betr. Autoren den hier zu besprechenden Streptokokkentyp in der Hand hatten.

1) Blutagar: Zarte, kleine, grünliche, immer leicht abstreifbare Kolonien; Nährböden leicht grünlich gefärbt. Keine Hofbildung. — 2) Agar: Kleine, durchsichtige Kolonien; bei 23° zartes Wachstum. — 3) Traubenzuckeragar h. S.: Milchig getrübt. — 4) Bouillon: Zart getrübt. — 5) Ascitesbouillon: Mikrosk. kurze, zarte Kettchen. — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: Zartes Wachstum, geringe Rötung. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch $^1/_4$stünd. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke:Unverändert. — 10) Neutralrotmilch: Nach 1—2 Tagen Gerinnung, keine oder nur geringe Reduktion. — 11) Malachitgrünmilch: Nach 2—4 Tagen intensiv grün. — 12) Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen rot und Gerinnung, später ev. unten weiß. — 13) Dextrose-Lackmusmilch: Nach 2—8 Tagen rot ev. Gerinnung. — 14) Laktose-Lackmusmilch: ebenso. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Niemals Gerinnung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen rot und Gerinnung. — 17) Taurochols. Natrium 1 Proz.: Nach 1—2 Tagen rot und Gerinnung, ev. unten weiß. Taurochols. Natrium 3 Proz.: Nach 24 Std. rot. — 18) Pathogenität: für weiße Mäuse nicht pathogen. — 19) Bakterizidieversuch: Nach 4 Std. immer Verminderung.

Kohlehydrate beeinflussen die Säurebildung der beiden Viridansarten in Lackmusmilch in derselben Weise wie die der Pyogenes-Streptokokken.

Von unseren 15 Stämmen des Strept. viridans a (Schottmüller) stammten 7 aus Blut (davon 4 bei Endocarditis lenta, 3 bei Sepsis), 2 aus peritonsillären Abszessen (durch Punktion gewonnen), 3 von Tonsillenabstrichen (bei Angina), 1 aus Eiter bei Otitis media, 2 aus Sputum. Die 4 aus Blut bei Endocarditis lenta

gezüchteten Viridansstämme verdanken wir dem Entgegenkommen von Herrn Prof. Schottmüller, wofür wir ihm auch an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank aussprechen.

Von unseren 3 Stämmen des Strept. viridans b stammten 2 aus peritonsillären Abszessen (durch Punktion gewonnen), 1 aus Blut bei Sepsis.

3. Pneumokokken und Streptococcus mucosus.

Typische Merkmale: 1) Ueppige, grüne Kolonien auf Blutagar, 2) kein Wachstum bei Zusatz von 1proz. Taurochols. Natrium zum Nährboden, 3) pathogen für weiße Mäuse.

Wir fassen Pneumokokken und Mucosus-Streptokokken zu einer Gruppe zusammen, weil ihre biologischen Unterschiede nur sehr gering sind. Differenzieren lassen sie sich lediglich auf Grund folgender Merkmale:

	Pneumokokken	Strept. muc.
Blutagar, Schleimbildung	—	+
Morphologisch	zugespitzte Diplokokken	in der Regel „Fliegenmadenketten"

Uebereinstimmend zeigen Pneumokokken und Mucosus-Streptokokken folgendes Verhalten:

1) Blutagar: Ueppige grüne Kolonien auf grün gefärbtem Nährboden, immer leicht abstreifbar, zuweilen um die grüne Kolonie ein schmaler hämolytischer Saum. — 2) Agar: zarte, bläuliche Kolonien; beim Strept. muc. größere Kolonien und Schleimbildung. Auf Agar ohne Serum- oder Asciteszusatz nur wenige Generationen lang fortzüchtbar. Bei 23° zartes Wachstum. — 3) Traubenz. Agar H.S.: Immer glasklar, in der Regel oben Zonen geringeren Wachstums. — 4) Bouillon: In der Regel ohne Serum- oder Asciteszusatz kein Wachstum. Falls Wachstum erfogt, diffuse Trübung, niemals bröckelig oder flockig. — 5) Ascitesbouillon: Mikroskopisch zugespitzte Diplokokken, kurze und längere Ketten, besonders beim Strept. mucosus sehr vielgestaltig. Oft Kapselbildung. — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: Immer blaue, zarte durchsichtige oder schleimige Kolonien. Niemals Rötung. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch ¼stündige Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Immer unverändert. — 10) Neutralrotmilch: In der Regel unverändert, zuweilen nach 2—4 Tagen in der Kuppe Gerinnung und Reduktion. — 11) Malachitgrünmilch: Nach 2—4 Tagen dunkelgrün, falls Wachstum erfolgt, was in der Regel der Fall ist. — 12) Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen rot. — 13) Dextrose-Lackmusmilch: ebenso. — 14) Laktose-Lackmusmilch: ebenso. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Niemals Gerinnung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Nach 2—8 Tagen rot, ev. Gerinnung. — 17) Tauchorols. Natrium 1 Proz. und 3 Proz. Immer unverändert. — 18) Pathogenität: Für weiße Mäuse stark pathogen. Unsere monatelang fortgezüchteten Pneumokokkenstämme hatten ihre Virulenz nicht eingebüßt; wir beobachteten nur 1 avirulenten Pneumokokkenstamm des Typus 4. In Milz und Herzblut der infizierten Tiere Diplokokken, in der Regel zugespitzt und mit Kapsel. — 19) Bakterizidie-Versuch: Nach 4 Std. Verminderung, später Vermehrung. — 20) Serologische Typentrennung. Unsere Pneumokokkenstämme verteilten sich auf die Typen 1, 2 und 4. Das Serum 3 agglutinierte ausschließlich schleimig wachsende Mucosus-Streptokokken, und zwar immer sehr prompt. Ein Mucosus-Stamm gehörte aber dem Typus 2 an.

Kohlehydrate beeinflussen die Säurebildung der Pneumokokken und Mucosus-Streptokokken in Lackmusmilch in derselben Weise wie die der Pyogenes-Streptokokken.

Den Strept. mucosus stellte Schottmüller im Jahre 1903 (57) auf Grund des schleimigen Wachstums auf der Blutagarplatte als besondere Streptokokkenart den hämolytischen und Viridans-Streptokokken gleichwertig an die Seite. Wittmaack (58) glaubt in der Kapselfärbung mit wäßriger Thioninlösung und in der Fliegen-

madenform der Ketten ein sicheres Unterscheidungsmerkmal gegenüber den Pneumokokken gefunden zu haben. Wir haben an anderer Stelle (59, vgl. auch Abschnitt 4) ausführlich dargelegt, daß sich ein bestimmter morphologischer Typus, der für alle schleimig wachsenden Streptokokken Gültigkeit hat, nicht aufstellen läßt, und daß auch die Wittmaacksche Thioninfärbung kein konstantes Merkmal ist. Vielmehr finden sich morphologisch sowohl bei den verschiedenen Stämmen als auch bei wiederholter Prüfung desselben fortgezüchteten Mucosusstammes alle Uebergänge zu den Pneumokokken. Ein konstantes Merkmal der Mucosus-Streptokokken ist lediglich die Schleimbildung auf feuchten Blutagarplatten, und wir kamen daher mit Schottmüller zu dem Schluß, nur diejenigen Stämme als Streptococcus mucosus zu bezeichnen, die nach mindestens 3maliger Ueberimpfung auf feuchte Blutagarplatten schleimiges Wachstum aufweisen. Daß aber die schleimig wachsenden Stämme biologisch nicht einheitlich sind, und eng mit den Pneumokokken verwandt sein müssen, beweist einmal ihre Verteilung auf 2 Pneumokokkentypen und dann das gemeinsame gleiche Verhalten auf den Differentialnährböden. Trotz negativ verlaufener Umzüchtungsversuche (Abschnitt 9) sind wir geneigt, den Streptococcus mucosus als eine Mutation der Pneumokokken anzusehen (die sich vielleicht infolge besonderer Schleimhautverhältnisse herausbildet, Paukenhöhle!).

Von unseren 16 Pneumokokkenstämmen stammten 1 aus Blut (bei Pneumonie), 8 aus Eiter (bei Otitis media), 2 aus Abszeßeiter, 5 aus Sputum. Von unseren 21 Strept. mucosus-Stämmen stammten 18 aus Eiter (bei Otitis media), 2 aus Sputum (bei Pneumonie), 1 aus Liquor (bei Meningitis).

4. Strept. longissimus.

Typisches Merkmal: In Aszitesbouillon dicke Schleimflocken und durch das ganze Gesichtsfeld gehende Riesenketten.

Longissimus-Streptokokken sind in der Literatur wiederholt beschrieben worden. Thalmann (60) konnte sie regelmäßig auf gesunden Mandeln nachweisen. Infolge ihres ubiquitären Vorkommens glaubte man in ihnen des öfteren die Erreger aller möglichen Infektionskrankheiten (z. B. Masern) gefunden zu haben. Wir selbst begegneten ihnen u. a. als verunreinigenden Keimen im Blut eines steril entbluteten Kaninchens und im Liquor eines Meningitiskranken neben Meningokokken. Die von uns beobachteten Longissimus-Streptokokken zeigten zwar mancherlei kleine Unterschiede, hatten aber folgende Merkmale gemeinsam:

1) Blutagar: Ueppige grüne Kolonien auf grün verfärbtem Nährboden; zuweilen um die grüne Kolonie ein schmaler hämolytischer Saum. Auf trockenem Nährboden fest anhaftend. — 2) Agar: Zarte, kleine, glasige Kolonien, oft mit unregelmäßig begrenztem, welligem Rand und fest anhaftend. Bei 23° oft kein Wachstum. — 3) Traubenz Agar h. S.: Immer glasigklar, Kolonien von ungleicher Größe wie kleine Körnchen. — 4) Bouillon: Wachstum in der Regel nur spärlich; Bouillon mit bröckeligem Bodensatz, zart getrübt oder flockig. Mikroskopisch uncharakteristische kurze Kettchen, zuweilen aber auch Riesenketten. — 5) Ascites-Bouillon: Nur in Bouillon mit Ascites- oder Serumzusatz regelmäßig dicke Schleimflocken, die mikroskopisch aus durch das ganze Gesichtsfeld gehenden Riesenketten bestehen. — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: Zarte blaue Kolonien. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch $^1/_4$stdig. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Immer unverändert. — 10) Neutralrotmilch: Nach 1—2 Tagen Gerinnung und meistens starke Reduktion in der Kuppe. — 11) Malachitgrünmilch: Unverändert. — 12) Lack-

musmilch: Nach 2—4 Tagen rot, später ev. Gerinnung und unten weiß. — 13) Dextrose-Lackmusmilch: Ebenso. — 14) Laktose-Lackmusmilch: Ebenso. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Niemals Gerinnung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Nach 4—10 Tagen rot, später ev. Gerinnung. — 17) Taurochols. Natrium 1 Proz. und 3 Proz.: Immer unverändert. — 18) Pathogenität: Für weiße Mäuse nicht pathogen. — 19) Bakterizidie-Versuch: In 4 Std. Verminderung. — Kohlehydrate beeinflussen die Säurebildung der Longissimus-Streptokokken in derselben Weise in Lackmusmilch wie die der Pyogenes-Streptokokken.

Von unseren 10 Stämmen des Strept. longissimus stammten 2 aus Sputum, 8 von Gaumenmandelabstrichen.

5. Streptococcus pleomorphus.

Typische Merkmale: 1) Mikroskopisches Bild der Aszitesbouillonkultur äußerst polymorph: Häufchen von Diplokokken, Tetradenformen und längere Ketten. 2) Mäusepathogen nach einer Infektionszeit von mehreren Wochen.

Diese von Bernhard (61, 62) und Wiesner (63) beschriebene Streptokokkenart wurde von Wiesner, Economo (64, 65) und Reichert (66) regelmäßig in den Gehirnen von Encephalitiskranken gefunden und von diesen Autoren als Erreger der Encephalitis lethargica angesprochen. Auch Bitter (67) beobachtete mäusepathogene, pleomorphe Streptokokken. Unser einziger Stamm dieser Art wurde ebenfalls aus dem Blute eines Kranken gezüchtet mit unklarem, grippalem Infekt (Kopfschmerzen, Kreuzschmerzen). Er wich in seinem Verhalten zu den Differentialnährböden in wesentlichen Punkten sowohl von den hämolysierenden als auch von den Viridans- und Longissimus-Streptokokken ab und kennzeichnet sich dadurch zweifellos als besondere Streptokokkenart:

1) Blutagar: Zarte, grauweiß-grünliche Kolonien, die den Nährboden nicht wesentlich verfärben und auf trockeneren Platten fest am Nährboden anhaften. Keine Hofbildung. Mikroskopisch kurze Kettchen und stäbchenförmige Kokken. — 2) Agar: Zarte, durchsichtige Kolonien. Bei 23° zartes Wachstum. — 3) Traubenz.-Agar H. S.: Glasigklar, körnige Kolonien. — 4) Bouillon: In der Regel feinste Bröckchen am Boden oder zart getrübt. Zuweilen kein Wachstum. — 5) Ascites-Bouillon: Getrübt, mikroskopisch, wie oben beschrieben, sehr vielgestaltig. Aber niemals Riesenketten wie beim Strept. longissimus. — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: Zarte, durchsichtige Kolonien, geringe Rötung. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch 1/4stdig. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Nach 1—4 Tagen geringe Rötung. — 10) Neutralrotmilch: Nach 2—4 Tagen Gerinnung, keine wesentliche Reduktion. — 11) Malachitgrünmilch: Nach 4—6 Tagen grün, ev. Gerinnnng. — 12) Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen rot und Gerinnung, später ev. unten weiß. — 13) Dextrose-Lackmusmilch: Ebenso. — 14) Laktose-Lackmusmilch: Ebenso. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen Gerinnung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Nach 2—4 Tagen Gerinnung. — 17) Taurochols. Natr. 1 Proz.: Nach 2—4 Tagen Gerinnung. Taurochols. Natr. 3 Proz.: Nach 4 Tagen rot. — 18) Pathogenität: Meist chronische Infektion, Exitus nach 3—6 Wochen. In Herzblut und Milz spärlich Diplokokken. Geprüft an weißen Mäusen.) — 19) Bakterizidie-Versuch: Nach 4 Std. Verminderung. — Kohlehydrate beeinflussen die Säurebildung des Strept. pleomorphus in Lackmusmilch in folgender Weise:

Arabinose in 2 Proz., Dextrose, Glyzerin, Laktose, Mannit, Maltose, Raffinose, Saccharose, Stärke in 2—10 Proz. Konzentration üben keinen wesentlichen Einfluß auf die an und für sich erhebliche Säurebildung aus.

6. Strept. lactis.

Typische Merkmale: 1) Arabinose-Lackmusmilch in 1—4 Tagen geronnen, 2) Nicht pathogen.

In der Benennung der aus der Milch gezüchteten Streptokokken folgen wir Heim (68), der die Bezeichnung Strept. lactis für sprachlich richtiger hält als die des Strept. lacticus (Kruse) und die des Strept. acidi lactici. In der Marktmilch fanden wir mit großer Regelmäßigkeit 2 Streptokokkenarten, von denen die eine mit der von Heim (68) beschriebenen übereinstimmte, während die andere, von uns als Strept. lactis b bezeichnete, sich vor allem durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen auszeichnete. Thermoresistente Milchstreptokokken haben in der Literatur wiederholt Beachtung gefunden (Sälter 69; Patzschke 70), bis jetzt war aber über ihre Differenzierung vom Strept. lactis Heim nichts näheres bekannt. Unsere Differenzierungsmethoden erlauben nicht nur eine sichere Unterscheidung der Milchstreptokokken von dem menschenpathogenen, sondern auch ihre Einteilung in die genannten 2 Unterarten. Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht über die hauptsächlichen Merkmale und Unterschiede der Milchstreptokokken:

	Strept. lactis (Heim) a	Strept. lactis b
Arabinose-L. Milch	Nach 1—4 Tagen Gerinnung	
Lackmusmilch	erst weiß, dann rot Gerinnung	erst rot, dann ev. unten weiß Gerinnung
Hitzeresistenz	—	+
Lackmusmolke	intensiv rot	unverändert
Milch mit taurochols. Natr. 1 Proz.	Gerinnung	unverändert

Strept. lactis a (Heim).

Diese Streptokokken sind von allen anderen durch ihr Verhalten in Lackmusmilch zu unterscheiden: Nach 12—24 Std. wird die Lackmuslösung zunächst vollkommen entfärbt, später tritt Rotfärbung auf und zwar zunächst oben. In den folgenden Tagen von oben nach unten fortschreitende Rotfärbung.

1) Blutagar: In der Regel sehr zarte, grünliche, niemals fest anhaftende Kolonien ohne nennenswerte Grünfärbung des Blutagars und ohne Hämolyse. — 2) Agar: Zarte, kleine, durchsichtige Kolonien wie die von Pyogenes-Streptokokken; bei manchen Stämmen aber auch sehr üppige, flatschige Kolonien. Bei 23° Wachstum ebenso gut wie bei 36°. — 3) Traubenzuckeragar h. S.: In der Regel milchig getrübt, andere Stämme glasig klar. — 4) Bouillon: Ohne Kohlehydratzusatz oft kein Wachstum. Sonst trüb oder bröckelig. Milchzuckerbouillon in der Regel diffus trüb. — 5) Ascitesbouillon: Diplokokken von teilweise ovaler Form (aber nicht immer oval!), kurze Ketten. — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse: — 7) Drigalski-Agar: meistens üppig rot, seltener zart und blau. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch $^1/_4$stünd. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Nach 1—2 Tagen ausgesprochen Zinnoberrot. — 10) Neutralrotmilch: Nach 1—2 Tagen Gerinnung und Reduktion. — 11) Malachitgrünmilch: Grünfärbung verzögert, nach 2—6 Tagen, ev. ausbleibend. — 12) Lackmusmilch: Nach 12—24 Std. weiß, dann Gerinnung und von oben nach unten fortschreitende Rötung. — 13) Dextrose-Lackmusmilch: Ebenso 14) Laktose- Lackmusmilch: Ebenso. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Nach 1—2 Tagen weiß und Gerinnung, später Rötung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Ebenso. — 17) Taurochols. Natrium 1proz.: Nach 1—2 Tagen weiß, Gerinnung, später rot. Taur. Natr. 3 Proz.: Nach 1—2 Tagen rot, ev. Gerinnung. — 18) Pathogenität: Für weiße Mäuse nicht pathogen. — 19) Bakterizidieversuch: Verminderung in 4 Stunden.

Wie aus der obigen Beschreibung hervorgeht, zeigen die einzelnen Stämme des Typus lactis a unter sich mancherlei Verschiedenheiten (Drigalski-Agar!); vermutlich dürfte ein eingehendes Studium dieser Streptokokkengruppe noch zur Aufstellung einzelner Unterarten führen.

Strept. lactis b (thermoresistent).

Die hitzebeständigen Milchstreptokokken zeichnen sich vor allen anderen Streptokokkenarten dadurch aus, daß sie Temperaturen von 60° und 65° im Wasserbad längere Zeit überdauern.

Im einzelnen zeigen sie auf den Differentialnährböden folgendes Verhalten:

1) Blutagar: In der Regel zarte, grünliche, immer leicht abstreifbare Kolonien ohne Grünfärbung des Blutagars und ohne Hämolyse. — 2) Agar: Kleine, zarte, durchsichtige Kolonien; einzelne Stämme zeigen ein etwas üppigeres Wachstum. Bei 23° ist das Wachstum nicht schlechter als bei 36°. — 3) Traubenzuckeragar H.S.: In der Regel getrübt. — 4) Bouillon: Oft ohne Kohlehydratzusatz kein Wachstum, bröckeliger Bodensatz oder getrübt. — 5) Ascitesbouillon: Z. T. ovale Diplokokken, kurze Ketten. — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: Ueppige, saftige Kolonien mit intensiver Rötung. — 8) Hitzeresistenz: Keine Abtötung durch 1/4stünd. Einwirkung von 60° und 65°. — 9) Lackmusmolke: Unverändert. — 10) Neutralrotmilch: Nach 1—2 Tagen Gerinnung, nur geringe Reduktion. — 11) Malachitgrünmilch: Nach 1—4 Tagen dunkelgrün, oft Gerinnnung. — 12) Lackmusmilch: Nach 2—8 Tagen rot und Gerinnung, später ev. unten weiß (nicht erst weiß und dann rot). — 13) Dextrose-Lackmusmilch: Ebenso. — 14) Laktose-Lackmusmilch: Ebenso. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Nach 1—2 Tagen rot und Gerinnung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Nach 1—4 Tagen rot und Gerinnung. — 17) Tauchochols. Natrium 1proz. und 3proz.: Unverändert. — 18) Pathogenität: Für weiße Mäuse nicht pathogen. — 19) Bakterizidieversuch: Verminderung in 4 Std.

Von unseren 12 Stämmen des Typus Strept. lactis a (Heim) stammten 10 aus Milch, 2 aus Urin (bei Cystitis, in beiden Fällen außerdem Bakt. Coli). Die thermoresistenten Streptokokken stammten alle (8 Stämme) aus Milch. Für die Reinzüchtung der Milchstreptokokken empfiehlt sich folgendes Verfahren: Mehrere ccm Marktmilch werden 10—20 Std. im 36er Brutschrank bebrütet, davon wird eine Oese auf eine Drigalski-Platte ausgestrichen und von den kleinen Streptokokkenkolonien werden Reinkulturen angelegt.

Kohlehydrate beeinflussen die Säurebildung der Milchstreptokokken in Lackmusmilch in folgender Weise: Beschleunigung der Säurebildung durch 2—5proz. Dextrose, Laktose, Mannit, Maltose, Raffinose, Saccharose und Stärke. — Ohne wesentlichen Einfluß: 2proz. Arabinose, 2—10proz. Glyzerin und 10proz. Laktose.

7. Strept. aërogenes.

Typisches Merkmal: In Traubenzuckeragar in hoher Schicht Gasbildung.

Soweit wir die Literatur übersehen, wurden gasbildende aërobe Streptokokken bisher nicht beschrieben. Wir züchteten den einzigen Stamm dieser von uns als Strept. aërogenes bezeichneten Streptokokkenart aus dem Blut eines Patienten mit tödlich verlaufener Sepsis (neben Strept. pyogenes und Staph. aureus). Der Strept. aërogenes weicht auch in seinem übrigen Verhalten zu den Differentialnährböden in wesentlichen Punkten von den bisher von uns beschriebenen Strept.-Arten ab:

1) Blutagar: Zarte, kleine, leicht grünlich gefärbte, nicht anhaftende Kolonien ohne Grünfärbung des Blutagars und ohne Hämolyse. — 2) Agar: Sehr zarte, kleine, durchsichtige Kolonien. Bei 23° ebenfalls zartes Wachstum. — 3) Traubenzuckeragar h. S.: Geringe Trübung, Agarsäule 1/2—1 cm vom Boden in die Höhe gehoben, nicht gesprengt. — 4) Bouillon: Zart getrübt. — 5) Aszitesbouillon: Mikroskopisch zarte, kurze Kettchen und Häufchen von Diplokokken, teilweise ovales Korn. Ketten ohne die Merkmale von Staphylokokkenketten (vgl. Abschnitt 1). — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar:

Sehr zarte, durchsichtige, blaue Kolonien. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch $^1/_4$stünd. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Nach 2—4 Tagen rot. — 10) Neutralrotmilch: Unverändert. — 11) Malachitgrünmilch: Unverändert. — 12) Lackmusmilch: Unverändert. — 13) Dextrose-Lackmusmilch: Unverändert. — 14) Laktose-Lackmusmilch: Unverändert. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Nach 1—4 Tagen rot und Gerinnung. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Unverändert. — 17) Taurochols. Natrium 1proz. und 3proz.: Nach 2—6 Tagen rot, ev. Gerinnung. (Der Strept. aërogenes wird von Galle nicht im Wachstum gehemmt, aber seine Säurebildung ist so gering, das die Rötung der Lackmuslösung zuweilen ausbleibt.) — 18) Pathogenität: Für weiße Mäuse nicht pathogen. — 19) Bakterizidieversuch: In 4 Std. Verminderung.

Gasbildung in Lackmusmilch (in 7proz. nicht alkalisierter Lackmusmilch zu prüfen!) erfolgt bei 2proz. Konzentration aus den Kohlehydraten: Dextrose, Raffinose, Saccharose und Stärke; aber nicht aus Arabinose, Glyzerin, Laktose, Mannit und Maltose.

8. Strept. anhaemolyticus.

Typische Merkmale: 1) In Blutbouillon keine Hämolyse, 2) Neutralrotmilch unverändert.

Wir machen den Vorschlag, unter der Bezeichnung, Strept. anhaemolyticus im engeren Sinne solche Streptokokkenarten zusammenzufassen, die sich durch fehlende Hämolyse in Blutbouillon von den Hämolysierenden und durch fehlende Milchgerinnung von den Viridans- und Milchstreptokokken unterscheiden, und die auch kein Gas bilden wie der Strept. aërogenes. Auf Schottmüllerschem Blutagar wachsen diese Streptokokken in der Oberflächen-Strichkultur farblos oder leicht grünlich, Tiefenkolonien sind aber zunächst von echten Viridans-Kolonien nicht zu unterscheiden. Wir beobachteten eingehender 2 Stämme anhämolytischer Streptokokken, die folgende Merkmale gemeinsam aufwiesen:

1) Blutagar: Zarte, leicht grünliche Kolonien auf nicht oder nur unwesentlich verfärbtem Blutagar, ev. fest anhaftend (Verwechslungen wären möglich mit dem Strept. viridans p). — 2) Agar: Zarte, kleine durchsichtige Kolonien; bei 23° ebenfalls zartes Wachstum. — 3) Traubenzuckeragar h. S.: Getrübt. — 4) Bouillon: Zart getrübt. — 5) Ascitesbouillon: Mikroskopisch zarte Diplokokken, kurze und mittellange Kettchen. — 6) Blutbouillon: Keine Hämolyse. — 7) Drigalski-Agar: Zarte, blaue Kolonien, ev. nach 2 Tagen geringe Rötung. — 8) Hitzeresistenz: Abtötung durch $^1/_4$stünd. Einwirkung von 60°. — 9) Lackmusmolke: Unverändert oder geringe Rötung. — 10) Neutralrotmilch: Unverändert. — 11) Malachitgrünmilch: Unverändert oder später schmutzig grünlich. — 12) Lackmusmilch: Fast unverändert. — 13) Dextrose-Lackmusmilch: Nach 1—2 Tagen rot. — 14) Laktose-Lackmusmilch: Fast unverändert. — 15) Arabinose-Lackmusmilch: Unverändert. — 16) Glyzerin-Lackmusmilch: Unverändert. — 17) Taurochols. Natrium 1proz.: Nach 1—2 Tagen rot, ev. Gerinnung und unten weiß. Taur. Natr. 3proz.: Nach 1—4 Tagen rot. — 18) Pathogenität: Für weiße Mäuse nicht pathogen. — 19) Bakterizidieversuch: In 4 Std. Verminderung. — Die Säurebildung unserer beiden Anhämolyticusstämme war abhängig von der Anwesenheit von Kohlehydraten. Diese beeinflussen die Säurebildung in Lackmusmilch in folgender Weise: Begünstigung der Säurebildung durch 2—5proz. Dextrose, Saccharose, Laktose. Ohne Einfluß auf die Säurebildung 2—5proz. Glyzerin, Mannit, Maltose, Raffinose, Stärke. Hemmung der Säurebildung durch 2proz. Arabinose.

Von unseren beiden Stämmen des Strept. anhaemolyticus stammte der eine aus Urin bei Cystitis (neben Bakt. Coli), der andere aus Abszeßeiter (neben Staph. aureus).

Wir sind weit von der Meinung entfernt, den hier beschriebenen Streptokokkenarten könnten bei näherem Studium nicht noch andere gleichwertig an die Seite gestellt werden. Sicher muß der obligat

anaërobe Strept. putrificus (Schottmüller) (71, 72) den genannten als 9. Art hinzugefügt werden. Soviel aber geht zusammgefaßt aus unseren Untersuchungen über die spezielle Bakteriologie der Streptokokken jedenfalls mit Sicherheit hervor, daß sich unsere 171 Streptokokkenstämme durch Kombination der im vorigen Abschnitt genannten Differenzierungsmethoden in 8 grundsätzlich verschiedene Arten mit eigenen biologischen Merkmalen einteilen ließen.

Literaturverzeichnis.

1) Schottmüller, Münch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 30. — 2) Kruse, Einführung in die Bakt. 1920. — 3) Rosenow, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. S. 284. — 4) Demmer, Klin. Wochenschr. 1925. — Norton, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 77. S. 208. — 6) Gotschlich, Göttinger Mikrobiol.-Tagung 1924. — 7) Hintze u. Kühne, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. S. 352. — 8) Kuczinsky u. Wolff, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 92. S. 119. — 9) Morgenroth u. Schnitzer, Ibid. Bd. 97. S. 77; Bd. 99. S. 221; Bd. 102. S. 287. — 10) Kruse, Einführung in die Bakt. 1920. S. 4. — 11) Schottmüller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64. S. 271. — 12) Ders., Münch. med. Wochenschr. 1903. Nr. 20, 21. — 13) Ders., Kulturmethoden. 1924. 6. — 14) Mandelbaum. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. S. 26. — 15) Schottmüller, Kulturmethoden. 1924. 40. — 16) Heim, Lehrb. d. Bakt. III. 1922. S. 15—19 — 17) Ders., Zeitschr. f. Hyg. 1924. 114. — 18) Kurth, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. 7. — 19) Thalmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. S. 267. — 20) Bitter u. Buchholz, Ibid. Bd. 95. S. 38. — 21) Thalmann, Ibid. Bd. 56. S. 263. — 22) Heim, Lehrb. d. Bakt. 1918. S. 335. — 23) von Lingelsheim, Kolle-Wassermann Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 4. 1912. S. 455.— 24) Wittmaack, Dtsch. med. Wochenschr. 1906. S. 1271. — 25) Wirth, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. B. 98. 1926. S. 503. — 26) Arzt, Ibid. Bd. 54. S. 398. — 27) Bitter, Ibid. Bd. 95. S. 60. — 28) Schottmüller, Kulturmethoden. 1923. 33. — 29) Kruse, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. S. 737. — 30) Ders., Einf. in die Bakt. 1920. S. 65. — 31) Heim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101. S. 104. — 32) Bitter u. Buchholz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. S. 49. — 33) Rosenthal u. Patai, Ibid. Bd. 73. S. 406. — 34) Gordon, Ibid. Ref. Bd. 73. S. 543. — 35) Salomon, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 47. S. 1; Inaug. Diss. Kiel 1908. — 36) Nieter, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. S. 307. — 37) Gordon, Hyg. Rundsch. Bd. 16. S. 1027. — 38) Baumgarten, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. S. 1. — 39) Pasquale, Zieglers Beitr. Bd. 12. — 40) Libmann, Medical Record. 1541. — 41) Fränkel, Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 25. — 42) Natvig, Arch. f. Gyn. 1905. S. 3. — 43) von Lingelsheim, Kolle-Wassermann. Bd. 4. 1912. S. 159. — 44) Fränkel, Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 39. — 45) Schultze, Münch. med. Wochenschr. 1907. S. 1167. — 46) Bitter u. Buchholz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. S. 48. — 47) Neufeld, Ibid. Bd. 93. S. 41. — 48) Schnitzer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 99. S. 389. — 49) Heim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101. 104. — 50) Schottmüller, Kulturmethoden. 1923. 42. — 51) Philipp, Münch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 16. — 52) Neufeld, Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikro. Bd. 4. 1912. S. 553. — 53) Adler, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101. S. 155. — 54) Bieling, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. S. 124*. 55) von Lingelsheim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. S. 347. — 56) Hamm, nach Schottmüller, Kulturmethoden. 1923. 34. — 57) Schottmüller, Münch. med. Wochenschr. 1903. S. 849, 909. — 58) Wittmaack, Dtsch. med. Wochenschr. 1906. S. 1271. — 59) Wirth, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 98. S. 502. — 60) Thalmann, Ibid. Bd. 56. S. 263. — 61) Bernhard, Berl. klin. Wochenschr. 1918. S. 778. — 62) Ders., Med. Klinik. 1918. S. 683. — 63) Wiesner, Wiener klin. Wochenschr. 1917. S. 933 und 1918. S. 1101. — 64) Economo, Neurol. Centralbl. 1917. S. 866. — 65) Ders., Wiener klin. Wochenschr. 1919. S. 393 — 66) Reichert, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. S. 261. — 67) Bitter, Ibid. Bd. 95. S. 48. — 68) Heim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101. S. 104. — 69) Sälter, Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 73. S. 64. — 70) Patzschke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. S. 245. — 71) Schottmüller, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 21. H. 3; Kulturmethoden. 1923. 44. — 72) Juhle, Inaug. Diss. Kiel 1921.

Ein Beitrag zur Biologie des Bacillus pyogenes.

[Aus dem Veterinär-Hygienischen Institute der Universität Leipzig (Dir.: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. Klimmer).]

Von **H. Haupt** in Leipzig und **W. Kramer** in Magdeburg.

Wie bereits in einer vorläufigen Mitteilung (1) erwähnt, konnten die Ergebnisse von Glage und späteren Untersuchern, daß der Bac. pyogenes in der Kuhmilch gute Lebensbedingungen findet, bestätigt werden.

Die weiteren Untersuchungen, die jetzt zu einem vorläufigen Abschluß geführt haben, bezweckten die Feststellung, welcher Anteil der Milch das Wachstum des Bac. pyogenes fördere. Diese Frage ist sowohl rein theoretisch hinsichtlich der Physiologie dieses Erregers, als auch praktisch hinsichtlich der Therapie der durch den Bac. pyogenes verursachten Eiterungen nicht ohne Bedeutung.

Außer den bereits genannten (1) Stämmen verwendeten wir noch einen 2. aus einem Backenabzeß vom Schweine gewonnenen Stamm Schwein II, einen Stamm Ziege (aus einem Euterabszeß) und bei einigen Versuchen überdies einen Stamm Rind III (aus einer Mastitis). Die Wüchsigkeit dieser Stämme war verschieden; am wüchsigsten erwiesen sich Stamm Schwein II und Stamm Ziege (sehr schwaches Wachstum auf frischem gewöhnlichen Agar), hierauf folgten Schwein I und Rind II (auf gewöhnlichem Agar kein Wachstum, auf geeigneten Nährböden zusammenfließender Belag), hierauf Rind I (auf guten Nährböden meist nur Einzelkolonien) und endlich Rind III (nur spärlich auf den besten Milchnährböden).

Zur Technik der Versuche sei kurz folgendes angeführt: Alle verwendeten Stämme wurden auf den einzelnen Nährböden durch 5 Generationen hindurchgeführt, um ein Mitübertragen von Nährbodenbestandteilen der Ausgangskulturen mit Sicherheit ausschließen zu können.

Als gewöhnliche Bouillon wurde eine Fleischextrakt-(1 Proz.), Pepton-(1 Proz.), Salz[NaCl 0,3 Proz. + (Na_2HPO_4 + 2 H_2O) 0,2 Proz.]-Lösung verwendet. Der gewöhnliche Agar enthielt die gleichen Materialien in denselben Konzentrationen und 3 Proz. Agar-Agar.

Es wurden folgende Milchanteile einer Untersuchung unterworfen: 1. Milchzucker als 3proz. Zusatz zu gewöhnlichem Agar. — 2. Das klare und neutralisierte Filtrat der gekochten durch natürliche Säuerung der Milch gewonnenen saueren Molken. Es war eines Teiles des Milchzuckers und fast allen Kaseins (natürliche Säuerung) sowie fast allen anderen Milcheiweißes (Kochen) und allen Fettes beraubt; es stellte also im großen und ganzen eine Lösung der Milchsalze und des durch die milchsäuernden Bakterien nicht vergorenen Milchzuckers nebst Spuren von Eiweiß dar. — 3. Das klare und durch mehrmonatiges Aufbewahren über Chloroform entkeimte Filtrat der durch Lab zur Gerinnung gebrachten Milch. Es enthielt die Milchsalze, Milchzucker, Milchalbumin und -globulin. — 4. Kaseinlösungen, hergestellt aus Caseinum purum Hammarsten: a) in 1proz. Lösung von Natrium

citricum neutrale (Löslichkeit des Kaseins 4proz.), b) in 1proz. Lösung von $Na_2HPO_4 + 12\ H_2O$ (Löslichkeit des Kaseines 3proz.), c) in einer Mischung von a und b zu gleichen Teilen (Löslichkeit des Kaseines 3,5proz.), d) in n/10 Natronlauge (Löslichkeit des Kaseines 8proz.), e) in Kalziumhydroxyd; abgewogene Mengen wurden bis zur Erreichung des Lackmusneutralpunktes zugesetzt, hierauf wurde mit dest. Wasser aufgefüllt, bis der Kaseingehalt in der Lösung 1 Proz. betrug. Die Lösung war stark opalisierend, nur in dünner Schicht durchsichtig, enthielt aber keine Flocken. Die Wasserstoffionenkonzentration der 1 : 10 verdünnten Lösungen betrug bei a, b und c gleichmäßig pH 6,8 und bei d pH 7,4. Die Lösungen in den Laugen stellten Lösungen von reinen Kaseinaten der entsprechenden Metalle dar, also Natriumkaseinat und Kalziumkaseinat. Die Lösung des Kaseins in den Salzlösungen dürfte ebenfalls auf einer Bildung von Natriumkaseinaten beruhen. Alle Lösungen waren sterilisierbar, bei den Natronkaseinaten trat eine Trübung nicht auf, beim Kalziumkaseinat war nach dem Sterilisieren eine sehr starke Opaleszenz festzustellen, die beim Erkalten wieder zurückging. — 5. Magermilch; sie enthielt alle Milchbestandteile, jedoch nur ganz geringe Mengen Fett. Außerdem wurde noch eine Drittelmilch (1 Teil Magermilch + 2 Teile aqua dest.) verwendet. — 6. Geklärte Drittelmilch (Brown and Howe); mit der doppelten Menge destillierten Wassers verdünnte Magermilch wurde mit 0,4 Proz. Natrium citricum neutrale oder mit 0,4 Proz. Natrium oxalicum oder endlich mit 0,4 Proz. $Na_2HPO_4 + 12\ H_2O$] versetzt und nach Aufhellung durch den Filter nach Chamberland-Heim vollständig klar gewonnen. Die Flüssigkeiten waren ganz schwach opalisierend, wurden nach dem Sterilisieren etwas stärker opalisierend, um sich nach eingetretener Abkühlung allmählich wieder zum anfänglichen Aussehen aufzuhellen. Sie enthielten alle Bestandteile der Drittelmilch mit Ausnahme des Fettes und — soweit oxalsaures bzw. phosphorsaures Salz Verwendung gefunden hatte — wohl aller bzw. mindestens eines Teiles der Ca-Ionen. Ueberdies war das in der Milch als Kalziumsalz vorkommende Kasein in das entsprechende Natriumsalz übergeführt worden (van Slyke und Bosworth, 2): Natriumzitrat + Kalziumkaseinat = Kalziumzitrat + Natriumkaseinat.

Die angeführten Milchfraktionen wurden teils unverändert, teils als Zusatz zu dem gewöhnlichen Nährboden, teils auch mit anderen Zusätzen auf ihre wachtumsfördernde Wirkung für den Bac. pyogenes geprüft. Beim Sterilisieren von Agar mit Zusätzen von Milch und kaseinhaltigen Fraktionen der Milch traten regelmäßig mehr oder weniger umfangreiche Fällungen von Kasein auf, was nach Ayers und Mudge (3) auf dem Gehalte des Agar-Agar an löslichen Ca- und Mg-Salzen beruht.

Unsere Züchtungsversuche hatten folgende Ergebnisse: 1. Milchzucker als 3proz. Zusatz zu gewöhnlichem Agar vermochte das Wachstum nur der beiden wüchsigsten Stämme (Schwein II u. Ziege) günstig zu beeinflussen. — 2. Im klaren Filtrat der gekochten saueren und nachträglich neutralisierten Molken erfolgte kein Wachstum irgendeines Stammes. Als Grundlage unverdünnt (mit 1 Proz. Pepton) oder 1 : 2 mit destilliertem Wasser verdünnt (mit 0,15 Proz. Fleischextrakt und 0,25 Proz. Pepton) zur Herstellung von Molkenagar verwendet, konnte nur beim Stamme Schwein II ein Wachstum erreicht werden. — 3) In süßen Molken erfolgte kein Wachstum. Als 20proz. Zusatz zu

gewöhnlichem Nähragar (steril dem 50° warmen Agar beigemengt) erwiesen sie sich für alle verwendeten Stämme (mit Ausnahme des Stammes Rind III) als wachstumsfördernd. Diese Eigenschaft dieses Milchserumagars blieb auch — etwas vermindert — nach dem Sterilisieren erhalten, wenn das Koagulum nicht abfiltriert worden war. Bei der großen Aehnlichkeit des Milch- und Blutserums soll auf diesen Milchanteil in einer späteren Mitteilung Bezug genommen werden. — 4. Die Lösungen von Kasein in Zitrat (a), Phosphat (b) und einem Gemisch beider Salze (c) zu 0,2 Proz. (auf Kasein bezogen) der gewöhnlichen Bouillon zugestzt erwiesen sich für die Vermehrung der verwendeten Pyogenesstämme als völlig ungeeignet. Eine entsprechende sowie eine nur 0,1proz. (auf Kasein bezogen) Kalciumkaseinat (e)-Bouillon hingegen erwies sich als guter Nährboden für alle verwendeten Stämme. Nach anfänglicher stärkerer Trübung trat vom 4.—6. Tage an eine Aufhellung des Nährbodens auf, die bei dem sehr schwerwüchsigen Stamme Rind I zu einer völligen Klärung führte (Peptonisierung?). Flüssige Nährmedien unter Verwendung des Natriumkaseinates (d.) als Grundlage (0,4proz. auf Kasein bezogen), wurden unter Zusatz von reinem und gewöhnlichem Kochsalz (0,8 Proz.) allein oder mit Zusatz von 3 Proz. Milchzucker oder mit diesen Zusätzen und überdies 25 ccm gekochter saurer Molken zu 100 ccm als Nährsubstrat ohne Erfolg verwendet. Auf allen 6 Nährböden, die stets 0,4 Proz. Kasein (auf reines Kasein bezogen) enthielten, wurde jedes Wachstum vermißt. Agarnährböden wurden durch sterilen Zusatz von 0,26 bzw. 0,3 bzw. 0,34 Proz. (auf reines Kasein bezogen) zum gewöhnlichen Agar mit den Lösungen in Phosphat (b.), in einem Gemisch von Phosphat und Zitrat (c.) und in Zitrat (a.) hergestellt. Auf keinem dieser drei Kaseinagarsorten wuchs der Stamm Rind III, auf Zitratkaseinagar zeigte der Stamm Rind I nur bis zur dritten Generation ein sehr schwaches Wachstum, die übrigen Stämme bis zur 5. Generation ein gutes Wachstum. Auf Phosphatkaseinagar vermehrte sich der Stamm Rind I bis zur 3. Generation gut bis mittelmäßig, in der 4. sehr gering, in der 5. setzte das Wachstum aus. Alle anderen Stämme zeigten auf diesem Nährboden sehr gute Vermehrung. Der Zitratphosphatkaseinagar erwies sich für alle Stämme (außer Rind III), als guter Nährboden bis zur freiwillig abgebrochenen 5. Generation. Der erwähnte Phosphatkaseinagar sowie ein durch Zusatz von Natriumkaseinat (d.) hergestellter (0,42 Proz. reines Kasein) Natriumkaseinatagar würde sterilisiert, wobei stets eine Fällung auftrat. Dieser sterilisierte Phosphatkaseinagar erwies sich für alle Stämme (außer Rind III) als guter oder mittelguter Nährboden, während auf dem sterilisierten Natriumkaseinatagar der Stamm Rind I nur bis zur 3. Generation erhalten werden konnte. Für die übrigen Stämme erwies sich auch dieser trübe Agar als günstig. Der Stamm Rind III zeigte auf keinem dieser Nährböden irgendwelches Wachstum.

Endlich konnte auch bei diesen Untersuchungen die Eignung des von Ayers und Johnson empfohlenen kasein- und gelatinehaltigen Nähragars für die Züchtung des Bac. pyogenes, sowie die eines entsprechend hergestellten flüssigen Nährbodens bestätigt werden. Das Wachstum in der „Ayers-Bouillon" war bedeutend geringer. Außer dem hier nicht versuchten Stamm Rind III konnten alle Stämme bis zur 5. Generation durchgeführt werden. — 5. In der Magermilch sowie in der Drittelmilch zeigten alle Stämme Wachstum (bei der

3. Generation freiwillig unterbrochen). Nach 2—5 Tagen wird das Kasein ausgefällt, nachdem bereits vorher eine Säuerung (Indikator nach Andrae [4]) eingetreten war. Nach weiterem Stehen im Brutschranke trat eine Verminderung des Koagulums und eine Abrundung der Kanten des Gerinnsels ein. Nach 14tägigem Bebrüten wurde die Biuretreaktion im Filtrate positiv, die Tryptophanreaktion negativ befunden (Rind I). In der zur Kultur verwendeten Milch waren beide Proben negativ. — 6) Geklärte Drittelmilchsorten boten keinem der verwendeten Stämme Wachstumsbedingungen. Mit durch Natriumzitrat gewonnener klarer Drittelmilch hergestellte Agarsorten (Zitrat-Drittelmilch als Grundlage mit Zusatz von 1 Proz. Pepton oder klare Drittelmilch 1 : dest. Wasser 2 als Grundlage und Zusatz von 0,15 Proz. Fleischextrakt und 0,25 Proz. Pepton) boten den Stämmen Ziege und Schwein II bis zur freiwillig abgebrochenen 5. Generation gute Wachstumsbedingungen, den übrigen verwendeten Stämmen nur ganz geringe in der 1. Generation. Entsprechende Agarsorten unter Verwendung von Oxalat-Drittelmilch ließen jedes Wachstum irgendeines Stammes vermissen.

Aus den obigen Ergebnissen sind folgende Schlußfolgerungen zu ziehen:

1) Verschiedene Stämme des Bac. pyogenes stellen an die Nährböden graduell verschiedene Bedingungen. Es scheinen die vom Rinde stammenden im allgemeinen höhere Anforderungen zu stellen als diejenigen, die von Eiterungen des Schweines oder der Ziege gewonnen wurden. — 2) Die gute Eignung der Milch als Nährboden für diesen Erreger beruht auf deren Gehalt an Kalziumkaseinat und wird wohl auch durch das Milchalbumin unterstützt. Während eine Verdünnung der Magermilch auf Drittelmilch die Milch zum Wachstum nicht ungeeignet gestaltet, geschieht dies, wenn in Drittelmilch Kalziumkaseinat durch das klar lösliche Natriumkaseinat ersetzt wird. Während Natriumkaseinat verschiedener Herstellung eine Nährbouillon, die an sich dem Bac. pyogenes keine Vermehrungsbedingungen bietet, für das Wachstum des Bac. pyogenes nicht geeignet macht, geschieht eine gute Ergänzung der Nährbouillon durch Zusatz von Kalziumkaseinat.

Schrifttum.

(Vgl. auch die Angaben am Ende der vorl. Mitteilung.)

1) Haupt, H., Hörig, H. und Haupt, R., Ein Beitrag zur Biologie des Bac. pyogenes. Vorl. Mitteilung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. S. 17.) — 2) van Slyke and Bosworth, a) Composition and properties of some Casein and Paracasein compounds and their relation to cheese. (New York Agricultural Experim. Stat. Techn. Bull. 1912. No. 26.); b) Why sodium citrate prevents curdling of milk by rennin. (Ebenda 1914. No. 34.) — 3) Ayers and Mudge, Milk powder agar for the determination of bacteria in milk. (Journ. Bact. Vol. 5. 1920. p. 565.) — 4) Andrade, Influence of glycerin in differentiating certain Bacteria. (Journ. Med. Res. Vol. 14. 1906. p. 551.)

Nachdruck verboten.

Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der Maul- und Klauenseucheforschung.

[Aus der Virus-Forschungsanstalt der Universität Jena.]

Von Prof. Dr. **W. Pfeiler**, Jena.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Im Jahre 1923 habe ich, wie ich als allgemein bekannt voraussetzen zu dürfen glaube, meine Arbeiten zur Erforschung und Züchtung des Erregers der Maul- und Klauenseuche einstelllen müssen. Ein allgemeines Verbot der wissenschaftlichen Arbeit folgte dieser Anordnung. Erst gegen den Winter 1924/25 ist die Neuaufnahme meiner Arbeiten unter den schwierigsten Verhältnissen, namentlich materieller und technischer Art, möglich gewesen. Ueber die nach Neuaufnahme der Arbeiten erzielten Ergebnisse ist, wenigstens in einigen Punkten, von mir berichtet worden (1, 2). Insbesondere habe ich in diesen beiden Arbeiten Stellung zu der in spanischer Sprache erfolgten Veröffentlichung von Ruppert (3) genommen.

Inzwischen ist es mir gelungen, über die erreichten Ergebnisse hinaus wesentliche neue Fortschritte zu erzielen. Diese liegen in der Hauptsache in der weiteren Verbesserung der Nährböden, die es ermöglichen, den Erreger der Maul- und Klauenseuche mit größerer Sicherheit, als in den Versuchen der Jahre 1920/22 auch in höherer Generationsfolge zur Entwicklung zu bringen.

Es ist nicht allgemein bekannt, wie die Ergebnisse der Nachprüfung der Frosch-Dahmenschen Befunde zur Züchtung und Sichtbarmachung des Maul- und Klauenseuche-Erregers, die während des Stillstandes meiner Arbeiten im Frühjahr 1924 veröffentlicht worden sind, ausgefallen sind. Sie seien daher hier wiedergegeben. Die Nachprüfungskommission, bestehend aus den Herren Giese, Gildemeister, Gins, Kleine, Lührs, Richters, kam zu folgendem Ergebnis:

1) Es gelang nicht, das Virus nach dem Vorschlage von Dahmen durch Zentrifugieren aus der verdünnten Aphthenlymphe auszuschleudern. 2) Die von Dahmen als Kultur bezeichneten Veränderungen auf den Nährböden wurden beobachtet, jedoch nicht nur auf den mit Virus der Maul- und Klauenseuche beschickten, sondern auch auf den zur Kontrolle mit steriler Oese bestrichenen Kulturflächen. Sowohl die mit Virus der Maul- und Klauenseuche als auch die mit steriler Oese aut den Kulturflächen erzeugten Veränderungen ließen sich in unbeschränkter Weise wieder erzeugen. Weder makroskopisch, noch mikroskopisch, noch färberisch konnten irgendwelche Unterschiede zwischen den Kontrollröhrchen und den sogenannten Kulturen festgestellt werden. 3) Sämtliche Meerschweinchenversuche, sowohl mit Kulturen, die der Kommission von Herrn Dahmen zur Verfügung gestellt wurden, als auch mit den von der Kommission angelegten sogenannten „Kulturen" blieben negativ; auch der Versuch, durch Meerschweinchenpassagen nach Dahmen eine Virulenzsteigerung zu erzielen, schlug fehl. 4) Auf Grund der mitgeteilten Befunde hat sich die Kommission bisher nicht von der Richtigkeit der Dahmenschen Angaben überzeugen können.

Zum optischen Teil dieser Befunde habe ich gemeinschaftlich mit Simons (4) im Februar 1925 Stellung genommen. Danach kann die

Methode der Photographie im U.V.-Lichte[1]) keinen Einblick in die wahre Gestalt von Mikroorganismen geben, die so klein sind wie die Froschsche „Loeffleria nevermanni". Wir haben seinerzeit zur allergrößten Reserve in der Beurteilung derartiger Befunde geraten: „Gerade auf dem Gebiete der „ultravisiblen" Organismen ist diese optische Methode wegen ihrer hohen Empfindlichkeit bei der Wiedergabe unvermeidbarer Verunreinigungen von etwa gleicher Größenordnung wie die mutmaßlichen Erreger bei ätiologischen Forschungen im allgemeinen nur mit der allergrößten Reserve verwendbar. Messende und rechnerische Untersuchungen ergeben, daß die Froschschen Größenangaben für seinen Aphthenerreger um mehrere Hundert Prozent zu niedrig sind. Aus seinen Photogrammen geht mit Sicherheit hervor, daß solche Organismen" bzw. Gebilde, wie ich dem hinzufügen möchte, „bei geeigneter Färbung schon bei gewöhnlicher Immersionsoptik zu sehen sein müssen." Mit Sicherheit kann man, wie wir ausführlich nachgewiesen haben, mit Hilfe der Abbeschen Formeln dartun, daß zur Darstellung z. B. der von Frosch als Aphthenerreger bezeichneten Gebilde die Photographie im U.V.-Lichte durchaus nicht notwendig ist. Frosch hat angeblich bei der Photographie im spektralblauen, durch Blauscheibe abgefilterten Tageslicht bei 1200facher Vergrößerung „stäbchenförmige" Gebilde dargestellt. Diese können dann aber nach mathematisch-optischen Berechnungen unmöglich kleiner sein als 0,172 μ, wodurch in einwandfreier Weise die Angabe widerlegt wird, daß es sich bei den von Frosch aufgenommenen Objekten um Gebilde handelt, die kleiner als 0,1 μ sind.

Schon diese Erwägung hätte eindringlichst vor der optimistischen Auffassung warnen sollen, daß mit Hilfe der Photographie im U.V.-Lichte wesentliche Fortschritte in der Erforschung des sog. ultravisiblen Erregers der Maul- und Klauenseuche zu machen sind. Wenn Ruppert (3) neuerdings zwei Photographien der „Kulturen" des Aphthenerregers (nicht etwa der Einzelorganismen) veröffentlicht hat, so hat er nur dasselbe zur Darstellung gebracht wie s. Zt. Frosch auch, nämlich auf der Schrägfläche des Agars in besonderer Ausbreitung verteilte korpuskuläre Elemente der Lymphe bezw. des Kondenzwassers, d. h. kleinste kolloidale und größere Teile und Lagerungen, Zellen, Zelllsplitter usw. in mehr oder minder großer Häufung.

Bezüglich der Einzelheiten der Einwände von Simons und mir muß auf das Studium der ausführlichen Publikation verwiesen werden. Auch heute müssen wir einen ähnlichen Standpunkt einnehmen, wie ich bemerken möchte, namentlich auch mit Rücksicht auf Befunde, wie sie auf anderen Gebieten neuerdings festzustellen versucht worden sind (Krebserreger der Engländer usw.). Ich werde die Ergebnisse meiner früheren optischen Untersuchungen über den „Erreger" der Maul- und Klauenseuche mit nächstem der Oeffentlichkeit übergeben; es hätte auf Grund zahlreicher, in den Einzelheiten äußerst interessanter Befunde nicht selten der Schluß nahe gelegen, in auffallenden Gebilden wie kleinsten Ringformen mit Einschlüssen oder randständigen Auflagerungen, kleinsten Diplo-Formen den Erreger zu vermuten. Alle diese Kulturen „erregten" aber nicht die Krankheit. Sorgfältige opti-

1) U.V. = ultraviolett.

sche Kontrolluntersuchung der einzelnen Bestandteile unserer Nährböden führte dann immer zur Entdeckung der gleichen Gebilde in den unbeimpften Nährböden selbst.

Weiter wäre vielleicht, auf Grund der zahlreichen negativ verlaufenen Infektionsversuche mit den Kulturen, die die eben erwähnten interessanten Details aufwiesen, bei meinen positiven, d. h. pathogenen Kulturen der Schluß zulässig gewesen: Der Erreger ist entweder wirklich für die bisher angewandte Technik nicht visibel zu machen oder verbirgt sich in der Lymphe bezw. den Kulturflüssigkeiten oder festen Nährsubstraten unter anderen, ihm gleichen kolloidalen Substanzen oder kleinsten Elementen, von denen ihn zu unterscheiden bei den früheren Untersuchungen bzw. dem heutigen Stande der Technik nicht mit Sicherheit gelungen ist. Was diese kolloidallen Teile anlangt, so würde der Inhalt der ausgezeichneten Arbeiten von Kallert (8) zu dieser Frage sich ungefähr mit den vorstehenden Ausführungen in Uebereinstimmung bringen lassen.

Aus dem quantitativen oder absoluten Ueberwiegen bestimmter kleinster, kolloidaler oder ihnen gleichender Teile in positiven Kulturen, sowohl solchen, die mit genuiner, filtrierter Aphthenlymphe beimpft worden sind, als auch solchen höherer Generationsfolgen kann man jedoch im Vergleich zu den benutzten Kontrollnährböden gewisse, sich immer mehr verdichtende Rückschlüsse darauf ziehen, daß diese, den Paschenschen Pockenkörperchen in ihrer Gestalt äußerst ähnlichen Gebilde den so lange vergeblich gesuchten Erreger der Maul- und Klauenseuche darstellen. Zahlreiche optische Befunde lassen nach dem Ergebnis von Kontrollprüfungen und anderen Erwägungen den Schluß zu, daß in den beobachteten Gebilden ein Agens zu sehen ist, das wahrscheinlich mit dem Erreger der Maul- und Klauenseuche identisch ist.

Trotz aller Reserve, die ich mir in der Deutung dieser Befunde immer wieder auferlegte, möchte ich eine Auffassung hier wiedergeben, die bereits in meinen ersten Arbeiten (9, 12) zu dieser Frage über den Erreger ausgesprochen worden ist; danach treten in bestimmten leicht getrübten Kulturen bei mikroskopischer Untersuchung (Dunkelfeld) feinste, tanzende Gebilde in großen Mengen auf, die in gleichartig hergestellten, aber nicht mit Virus versetzten Nährböden nur in geringerer Menge zu beobachten waren. Auf Grund meiner weiteren Untersuchungen muß ich die von Frosch gegebene Definition des sog. Erregers der Maul- und Klauenseuche (Löffleria nevermanni) als eines „stäbchenförmigen" Gebildes mit Rücksicht auf die Größen- und besonders die Formverhältnisse, die diese von mir beobachteten Gebilde haben, ablehnen: die in Rede stehenden feinsten, rauchgrau erscheinenden Gebilde, deren Größenverhältnisse zunächst nur nach der Größe des Abstandes der Beugungsringe, die man im Dunkelfeld beobachtet, geschätzt werden können und noch näher berechnet bezw. festgestellt werden sollen, erscheinen rund. Sollten sich die Beobachtungen weiter sichern lassen, so wird man die Gebilde zu den Strongyloplasmen (Lipschütz) zu stellen haben.

Bei der Schwierigkeit der ganzen Frage vom Standpunkt der optischen Differenzierung und des Erreger-Nachweises der Gebilde, bei der immer mehr in den Vordergrund rückenden Beschäftigung von Spezialforschern mit dieser Materie will es mir angezeigt erscheinen, hier einige Gesichtspunkte zu entwickeln, die mich bei meinen Arbeiten

geleitet haben und die, wenn sie auch in mancher Beziehung ergänzt und erweitert werden müssen, wie es mir scheinen will, nicht immer genügend beachtet worden sind. Man wird sich zunächst die Frage vorzuhalten haben, ob man die vermeintlichen Erreger im nativen, lebenden Zustande oder gefärbt oder sonstwie vorbehandelt (z. B. Veraschung, Vergoldung nach Bechhold-Vialla, Silber-Imprägnation) darstellen will.

Der Färbung treten die größten Schwierigkeiten entgegen. Die Medien, in denen wir die Erreger zum Ausstrich bringen, enthalten Kolloide in größter Anzahl und von verschiedener Größenordnung, von denen die kleineren, des Beispiels wegen, als gleichgroß wie das Silberbezw. das Gold-Molekül angesehen werden sollen. Alle diese kolloidalen Teile aber färben sich, darüber hinaus noch alle möglichen ungeformten Substanzen, in mehr oder weniger starker Schattierung. In den zu untersuchenden genuinen Substraten, z. B. Pocken-, Maul- und Klauenseuche-Lymphe, Schweinepest-Virus wissen wir nichts über die Menge der in ihnen enthaltenen Erreger. Wir können sie z. B. bei der Maul- und Klauenseuche nach den neueren Versuchen von Brachmann (7), sowie den in Gemeinschaft mit meinem Schüler Standfuß (10) ausgeführten Schweinepestversuchen als außerordentlich groß voraussetzen. Ist die Maul -und Klauenseuche-Lymphe aber älter als 24 Stunden, so ist die Zahl der lebenden bezw. infektionstüchtigen „Virus-Moleküle" bereits sehr zurückgegangen. Das optische Substrat für abgestorbene Teile muß aller Wahrscheinlichkeit nach aber noch genau so vorhanden sein wie 24 Std. vorher.

Ueber die Gestalt dieser Gebilde wissen wir sehr wenig. Die Strongyloplasmen der Taubenpocken, Vakzine-Körperchen usw., manche Befunde bei der Tollwut, der Schweinepest (Proescher), meine eigenen bei Maul- und Klauenseuche, sprechen für runde Gestalt. Die kleineren Kolloide sind aber großenteils auch rund. Wenn wir nicht ein brauchbares Beiz-, Färbe- oder Differenzierungsverfahren für die Erreger der einzelnen „Viruskrankheiten" bekommen, so wird die Unterscheidung, da die Kolloide den Erregern in der Gestalt gleichen können bzw. gleichen, bei gefärbten Präparaten bis auf weiteres auf größte Schwierigkeiten stoßen.

Wir werden daher vorläufig der Auffindung der vermeintlichen Erreger in ungefärbten Präparaten, besonders mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung, nachgehen müssen. Wir haben dabei bisher in keinem der untersuchten zahlreichen Präparate aus genuiner Lymphe bzw. Kulturen Formen mit Eigenbewegung gesehen. Für die Untersuchung ist wichtig, nur die in molekularer Bewegung befindlichen Schichten des Präparates zu benutzen. Die an den Glasflächen (Oberfläche des Objektträgers, Unterseite des Deckglases) haftenden fixen Teilchen oder Gebilde müssen nach unserer heutigen Auffassung unbedingt unbeachtet gelassen werden; zahlreiche Kontroll-, auch Leer-Präparate zeigten die mannigfaltigsten Figuren und Formen an den Glasflächen. Die verschiedene Helligkeit der in der Flüssigkeitsschicht in molekularer Bewegung befindlichen kleinen Kolloide oder Gebilde, die leicht dazu führt, in ihnen besonders differenzierte Formen zu sehen, kann, wie die Untersuchung von Kontroll-Präparaten gezeigt hat, ihre Ursache in der Zusammensetzung, dem Alter der Kultur usw. haben.

Die von uns immer und immer wieder beobachteten, anfangs besonders verfolgten, im Nativpräparat vorhandenen farbigen Kolloide sind wohl immer anorganischen Ursprungs. Die kleinsten Kolloide von etwa rauchgrauer Farbe, mit denen die vermeintlichen Erreger zu identifizieren sein dürften, sind so klein und lichtschwach, daß nicht ein einziger Beugungsring an ihnen sichtbar ist. Setzen wir die Ausmaße von großen Eiweiß-Kolloiden, wie sie in den untersuchten Lymphe-, Kultur- bzw. Kontroll-Präparaten immer vorhanden sind, meist in häufchenförmiger Lagerung, etwa 1 μ, so sind die an der untersten Grenze der Sichtbarkeit stehenden Koloide, die wir in unseren Flüssigkeiten als solche 3. Ordnung zu bezeichnen pflegen, schätzungsweise 30 $\mu\mu$ = 0,000003 mm. Unter den übrigen Kolloiden, die wir mehr und mehr von der Beobachtung ausgeschlossen haben, gibt es viele, die eine unregelmäßige Gestalt ahnen lassen (unregelmäßige Beugungsscheibchen usw.). Letztere treten trotz sorgfältigster und einwandfreier Einstellung der Beleuchtung auf.

Auch die von Stauffacher beschriebenen Formen (Kopf mit Schwänzchen), die wir im übrigen in roten Blutkörperchen auch gefärbt besonders gut haben darstellen können, aber auch in Präparaten aus normalem Blut, konnten wir in allen Nativpräparaten der Lymphe, ferner des beimpften und unbeimpften Nährbodens, Serums usw. finden. Sie erscheinen häufig als Doppel-Kolloide, von denen das eine fast doppelt so groß ist wie das andere. Die Verbindung zwischen beiden Kolloiden ist nicht oder nicht deutlich zu erkennen, wahrscheinlich wegen der größeren Helligkeit der Beugungsringe hauptsächlich des großen Kolloides.

Besonders hervorheben möchten wir, daß ungefärbte Dunkelfeld-Präparate, im Dunkelfeld betrachtet, ganz andere Bilder und Vorstellungen ergeben. Hieraus können leicht Täuschungen entstehen. Z. B. kann man die von Frosch im U.V.-Lichte photographierten Bilder leicht in den im Dunkelfeld festgestellten Zerfallsteilen von weißen Blutkörperchen oder Eiweiß-Konglomeraten wieder erkennen.

Ueber die in einzelnen Kulturen von uns beobachteten Ringformen mit bipolarer Verstärkung, die eine ovale Form vortäuschen, ferner über die sog. geknickten Scheibchen behalten wir uns weitere Veröffentlichungen vor. Wir haben diese Gebilde bisher noch nicht in Nährböden, die auf Grund besonderer Vorbereitung sozusagen optisch leer in den Kontrollen erschienen, gesehen, auch nicht in positiven Kulturen mit denselben Nährsubstraten, die aber eine relativ sehr viel größere Anzahl von kleinsten kolloidalen runden Elementen enthielten.

Neuerdings hat Dahmen (5) über den jetzigen Stand seiner Versuche berichtet, aus denen für mich (und wohl auch die mit der Erforschung und Züchtung filtrierbarer Virusarten beschäftigten übrigen Forscher) ohne weiteres hervorgeht, daß sich Dahmen von der Unzulänglichkeit seiner früheren Arbeiten überzeugt haben muß und auf einem neuen Wege versucht, an die Erreichung des Zieles heranzukommen. Für den mit der Materie Vertrauten war es nach Kenntnisnahme der Dahmenschen Veröffentlichung auf den ersten Blick klar, daß mit den alten von Dahmen angegebenen Nährböden, die im übrigen in der Mikrobiologie längst bekannt sind und denen zur Züchtung des Erregers der Lungenseuche entsprechen, die Züchtung des Erregers der Maul- und Klauenseuche nicht erreicht werden kann. Dahmen hat in

dieser Veröffentlichung erwähnt, daß es weder der vornerwähnten Kommission noch mir geglückt sei, das Virus auf den Nährboden seiner Angabe durch mehrere Generationen hindurch überhaupt zu konservieren. Diese Angabe ist, was meine Versuche anlangt, objektiv falsch. Ich habe die Dahmenschen Nährböden als nicht geeignet bezeichnet, den Erreger auf ihnen zu züchten. Versuche habe ich aus der Erkenntnis der Ungeeignetheit der Dahmenschen Nährböden überhaupt nicht unternommen. Es soll an dieser Stelle nicht näher auf diese Ausführungen eingegangen, sondern in der von Dahmen für seine Veröffentlichung gewählten Zeitschrift Stellung zu dieser und anderen Fragen genommen werden.

Nach dem Wortlaut der letzten Dahmenschen Veröffentlichung steht man im Froschschen Institut offenbar erst am Anfangs- bzw. Ausgangspunkt von primitiven Züchtungsversuchen, die im Vergleich zu den bisherigen Mitteilungen von Frosch und Dahmen jedenfalls zeigen, daß sie grundsätzlich einen neuen Weg eingeschlagen haben.

Es ist Dahmen danach gelungen, den Erreger im Brutschrank bis zu 8 Wochen in einem nicht näher definierten Medium lebensfähig und gleichmäßig virulent zu erhalten. Ruppert hat bereits vor Dahmen ähnliche Befunde veröffentlicht. Danach ist es ihm in Kulturen, die er zur Ausschaltung des vorausgesetzten, den Erreger der Maul- und Klauenseuche schädigenden „Bakteriophagen" paraffiniert hat, gelungen, seine Kulturen, die wohl gemerkt nur bis zur 3. Generation (= Verdünnung d. Verf.), nicht darüber hinaus, infektiös waren, bis zu 40 Tagen im Brutschrank infektionsfähig zu erhalten. Lehrbücher wie Hutyra-Marek (6) enthalten die Angabe, daß virushaltiges Blut, bei Temperaturen von 1—2° C aufbewahrt, mehrere Monate lang ansteckungsfähig bleibt (Roux und Mitarbeiter). Im übrigen hat Dahmen ja bereits auf der Göttinger Mikrobiologen-Tagung (11) in Bestätigung eines Versuchsergebnisses von mir — die Dahmenschen Mitteilungen haben sich bis jetzt in allen Punkten nur als die Aufnahme von Gesichtspunkten anderer Forscher erwiesen — behauptet, es sei ihm gelungen, mit einer 200 Tage alten Kultur die Maul- und Klauenseuche zu erzeugen. Bezüglich seiner Infektionsversuche auf der Insel Riems sei aus diesem Anlaß erwähnt, daß sie von Sachkennern nicht als beweisend angesehen werden, da von kompetenten Beurteilern erklärt worden ist, daß auf der Insel Riems jedes Rind an Maul- und Klauenseuche erkrankt. Im übrigen sei zur Bewertung der Dahmenschen Befunde auf die vorn angeführten Nachprüfungsergebnisse verwiesen.

Von Vermehrung wird in den neuen Dahmenschen Versuchen nur in der 1. Generation gesprochen. Es wird indirekt auf sie geschlossen, weil das Virus sich im Anfange nur bei geringer Konzentration infektionstüchtig erwies, während es später bei 180 000facher Verdünnung (der 1. Generation) noch die Maul- und Klauenseuche machte. Protokollarische Angaben fehlen. Der Beweis für Vermehrung wird rein rechnerisch erbracht. Setzt man eine Konservierung des Virus voraus, wie dies bei einer „1. Generation" unbestritten zugegeben werden muß, so wird namentlich unter Heranziehung der neuerdings von Brachmann (7) mitgeteilten Daten der Einwand begründet erscheinen, ob ein solcher Zahlenvergleich berechtigt, in diesem Falle von Vermehrung des Virus zu sprechen.

Erwähnt werden ferner von Dahmen Subkulturen, jedoch ohne Angabe der Zahlen der generationsweisen Fortzüchtung. In einem Falle ist es Dahmen gelungen, mit einer solchen Subkultur eine Erkrankung zu erzeugen, die ohne Primäraffekt an den Sohlen innerhalb von 3 Tagen zur Generalisation führte. Die Hervorhebung dieses Einzelfalles soll zweifellos die große Bedeutung dieses Befundes vorführen.

Derartige Befunde sind in meinen Versuchen immer und immer wieder aufgetreten. Sie gehören zu den Gelegenheitsfunden, auch bei hohen Generationsfolgen wie zwischen der 12. und 25. Darüber soll weiter unten noch eine kleine tabellarische Uebersicht gegeben werden. Ob es sich bei solchen Befunden um Infektionen mit Kulturen von geringer Virulenz oder etwa um Auswirkungen des Tierkörpers gegenüber

dem Erreger handelt, die zu derartigen Erkrankungen führen (erhöhte lokale Widerstandsfähigkeit), soll hier nicht entschieden werden.

Im folgenden sollen nun, unter Hinweis auf die großen Schwierigkeiten des Arbeitens auf diesem Gebiete, die bei der Kultur des Erregers in den neuen Jenaer Versuchen gemachten Fortschritte beleuchtet werden. Die bis jetzt durchgeführten Arbeiten ergeben die nachstehenden Resultate:

Es ist auch weiterhin kein Anhaltspunkt dafür gefunden worden, daß die von Frosch und Dahmen beschriebenen Kulturen bzw. beigebrachten bildlichen Darstellungen von solchen Kulturen oder gar Einzelformen des Erregers diesen tatsächlich enthalten oder abbilden. Für meine Auffassung der Morphologie des Erregers sprechen die Ergebnisse einzelner Filtrations- und optischen Versuche, in denen im Vergleich zu den nicht beimpften. Nährböden feinste kolloidale Elemente in weitaus größerer Anzahl und von annähernd einheitlichem Typus aufzufinden waren.

Als Weg für die Lösung des Problems der Sichtbarmachung filtrierbarer, sog. ultravisibler Krankheitserreger hat meines Erachtens der der Ultrafiltration die weitaus größten Aussichten, an das Ziel zu führen. Treten in Nährlösungen oder Abschwemmungen von festen Nährböden in großen Mengen kolloidale Formbestandteile von einheitlichem Typus auf, die in den in gleicher Weise behandelten, nicht mit Virus beimpften Kontrollen fehlen, so ist auf eine Vermehrung des infektiösen Agens zu schließen, wenn sich diese Lösungen auch in höherer Generationsfolge als krankmachend erweisen.

Es kann, wie ich mehrfach hervorgehoben habe (1, 2), von einer gelungenen Kultur des Erregers der Maul- und Klauenseuche nur in solchen Fällen gesprochen werden, wo einwandfrei erwiesen ist, daß nach der Verdünnung des Ausgangsmaterials (z. B. billionenfach) die Kulturröhrchen sichere und zweifelsfreie Infektionen ergeben, während in den Kontrollen dies nicht mehr der Fall ist.

Die Ergebnisse der mit meinen Nährböden durchgeführten Versuche lassen zwingend den Schluß zu, daß eine Vermehrung des Erregers der Maul- und Klauenseuche stattfindet. In einzelnen Versuchen, deren Fortführung uns möglich war, ist es gelungen, den Erreger in mehr oder weniger lückenloser Generationsfolge bis zu vielbillionen-, trillionen-, ja vielquadrillionenfacher Verdünnung zu züchten. Um eine Vorstellung von diesen Zahlen zu geben, sei erwähnt, daß in unserer 3. Generation eine $X \cdot 5^{2}$-, in der 15. eine $X \cdot 5^{14}$-, in der 25. beispielsweise eine $X \cdot 5^{24}$fache Verdünnung vorhanden ist. Wählen wir als Ausgangsmaterial beispielsweise eine 400fache Verdünnung, so ist $400 \cdot 5^{24} = 23{,}8 \cdot 10^{18}$ = 23,8 Trillionen, eine Verdünnung, die sich in der Kultur nach vielwöchentlichem Aufenthalt außerhalb des Tierkörpers als virulent erwiesen hat[1]). Es ist schwer, sich eine räumliche oder sonst anschauliche Vorstellung von diesen Ausmaßen zu machen; deswegen seien diese Ziffern besonders erläutert. Denkt man sich in der 25. Generation das ursprünglich eingebrachte und

1) Für die liebenswürdige genaue logarithmische Berechnung dieser Zahlen sage ich Herrn Privatdozenten Dr. Prüfer-Jena auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank. — Zur Erläuterung der Zahlen diene, daß 1 Billion = 1 Million Millonen, 1 Trillion = 1 Million Billionen, 1 Quadrillion = 1 Million in der 4. Potenz, d. h. = 1 Million Trillionen ist.

quantitativ annähernd genau gemessene infektiöse Agens geschieden von dem Nährmaterial und ersteres zusammengedrängt in eine Ecke des Kulturgefäßes, das des Beispiels wegen 5 ccm Nährsubstrat enthalten soll, so füllt die infektiöse Substanz in dem Kulturgefäß einen Würfel von 5,9 Millionstel Millimeter-Seitenlänge. Diese sind in unserem Beispiel die wirklichen Raumgrößen. Um diese Ausmaße in ihrem Größen-Verhältnis besser zu veranschaulichen, wollen wir annehmen, daß wir den Versuch in sehr viel größerem Maßstabe, also mit sehr viel mehr infektiöser Ausgangsmasse und in weit größeren Mengen Nährsubstrat ausführen, und zwar wollen wir so viel Substanz verwenden, daß schließlich nicht ein Würfel von 5,9 Millionstel Millimeter-Seitenlänge, sondern ein solcher von 1 Millimeter-Seitenlänge (berechnet auf das in der 25. Generation vorhandene infektiöse Agens) entsteht. Das für die Aufnahme der größeren Menge Nährsubstrat notwendige Gefäß soll gleichfalls die Form eines Würfels bekommen, der dann die entsprechende Größe von 2,8 km-Seitenlänge haben müßte. Es entsteht also folgende Proportion: Würfelinhalt bei 5,9 Millionstel-Millimeter-Seitenlänge : 5 ccm = 1 cmm³: Würfelinhalt bei 2,8 km-Seitenlänge. Wir müssen es uns versagen, an dieser Stelle weitere ziffernmäßige Vorstellungen zu geben, wir wollen nur bemerken, daß es bei der weiteren Fortführung unserer Versuche gelungen ist, in einer 34. Generation mit einer 46 quadrillionen 234 000 trillionenfacher Verdünnung ausgesprochene Aphthen mit Generalisation zu erzeugen. Wir kommen damit dem Stande unserer alten Versuche, wo wir u. a. in der 43. Generation noch Kultur-Aphthen erzeugen konnten, nahe und hoffen, mit nächstem über weitere Ergebnisse nach dieser Seite berichten zu können. Das Ausgangsvirus für diese Kultur befand sich, nebenbei bemerkt, annähernd 5 Monate im Reagenzglas.

Ich habe, was ich als wichtig für die Kultur des Maul- und Klauenseuche-Erregers auch an dieser Stelle hervorheben muß, in Berichten an Behörden bzw. aus anderen Anlässen mehrfach darauf hingewiesen, daß feinste, bisher für uns nicht meß- oder sonstwie abwägbare Abweichungen in den Nährböden für gewisse, in meinen Versuchen aufgetretene Unregelmäßigkeiten vielleicht verantwortlich zu machen sind, ein Gesichtspunkt, den Dahmen für seine neuen Subkulturen ohne Angabe der Generationsfolge, wie seine neueste Veröffentlichung zeigt, aufgenommen hat. Auch andere Verhältnisse können für die oft schwankenden Infektionsergebnisse evtl. verantwortlich gemacht werden, z. B. das Verhalten des Erregers gegenüber verschiedenen Temperaturen[1]).

Die bisherigen Beobachtungen lassen die Annahme eines Generationswechsels des Erregers zu, wenn nicht die eben erwähnten feinsten, von mir seit Beginn meiner Forschungen betonten Abweichungen in der Zusammensetzung der Nährböden für dieses Verhalten verantwortlich zu machen sind. Auf Grund dieser Beobachtungen muß, unter der eben gemachten Einschränkung, eine Periodizität des

1) Zur sicheren Klärung dieser Fragen gehört die Verfügung über ein Laboratorium mit einer ganzen Anzahl von Brutschränken und besonderen Züchtungsapparaten. Meine Versuche sind an sich auf große Reihen eingestellt. Es ist mir aber bei den geringen, für die Bearbeitung der wichtigsten Frage der veterinären Mikrobiologie in Jena zur Verfügung stehenden Mitteln nicht möglich, diese Fragestellungen einstweilen endgültig zu beantworten. Ähnlich liegt es mit einer ganzen Reihe anderer Fragen.

Wachstums des Erregers bis zur endgültigen Klärung dieser Verhältnisse angenommen werden. Ich behalte mir vor, die Ergebnisse z. B. des Verhaltens meiner Kultur 408 hierfür eingehend als Beleg zu veröffentlichen[1]).

Generell sei auf Grund unserer Versuche bemerkt, daß das Verhalten des Erregers der Maul- und Klauenseuche und vielleicht auch anderer filtrierbarer Krankheitserreger, verglichen mit dem der Bakterien, ein so gegensätzliches ist, daß die Versuche auf einer ganz anderen Basis aufgebaut werden müssen, wie die zur Züchtung von Bakterien. Dies hat mir die leitenden Gesichtspunkte für die Zusammensetzung meiner Nährböden zur Züchtung filtrierbarer Krankheitserreger gegeben.

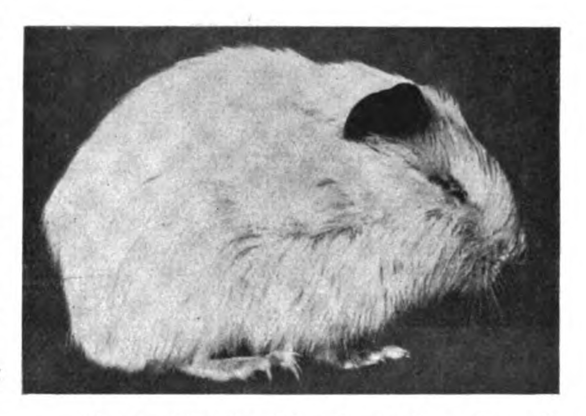


Fig. 1. Krankes Meerschweinchen (Generalisation). Das Tier sitzt „aufgeplustert" mit gesträubtem Haar. Die Augen, Nase und Maul sind verklebt, die Augen halb oder ganz geschlossen. Die Haare am Hals sind durch starkes Speicheln befeuchtet. Die Planten und Volen sind wegen schwerer Aphthen sehr schmerzhaft, sie werden nach außen bzw. vorn geschoben. Starke Abmagerung.

Diese Zusammensetzung ergibt zuweilen eine überraschende Virulenz der Kulturen in hoher Generationsfolge. So übertrifft die Infektiosität meines Kultur-Virus der Maul- und Klauenseuche in vielen Fällen die des natürlichen Aphthen-Virus (Fig. 1--3). Aus diesem Grunde wird (auch, um Versuchstiere zu sparen), in unseren Versuchen die 1. Generation überhaupt, die 2. neuerdings nicht an Meerschweinchen verimpft. Es ist nach allen unseren Erfahrungen selbstverständlich, daß das in diese eingeimpfte Virus sich oft wochenlang trotz starker Verdünnung virulent erhält. Die systematische Prüfung unserer Kulturen setzt also mit der 2. oder 3. Generation ein. Daß die krankmachende Wirkung nicht wesentlich herabgesetzt ist, zeigt die folgende Tabelle, in der im Vergleich die 2. bzw. der Raumersparnis wegen entsprechende spätere Generationsfolgen gegenübergestellt werden.

---

1) Auch für diese Beobachtung lassen sich bis heute, wie es bei einer so schwierigen und relativ neuen Frage der Mikrobiologie, an der nur wenige arbeiten, verständlich ist, gewisse andere Erklärungen finden. Daher ist es mir aus den erwähnten Gründen nicht möglich, jede einzelne Kultur nach den verschiedensten Gesichtspunkten und zu den verschiedensten Zeiten zu prüfen. Für jede Kultur müßte weiter ein frisches, noch nicht im Versuch gewesenes Meerschweinchen benutzt oder noch besser mehrere Tiere für eine Kultur zur Impfung herangezogen werden. Leider fehlen dazu die Mittel und die Hilfskräfte. Die Tiere kommen oft 3—4—5- und mehrmal in den Versuch, und es ist möglich, daß sie dabei einen gewissen Grad von Immunität erreichen, so daß sie sich gegenüber Infektionen mit an sich positiven Kulturen unempfänglich verhalten. Dieses Mangels meiner Versuche bin ich mir bewußt.

Die Generalisation folgt in nahezu 100 Proz. der Fälle der lokalen Erkrankung. Die Aphthen an den Sohlen haben oft große Ausmaße. Es ist vorgekommen, daß aus den Blasen der Planten eines Tieres 14—16 Kapillaren (13 cm:1 mm) mit Lymphe gefüllt werden konnten.

obere Schneidezähne
diphtherische Beläge
mit Aphthen bedeckte Zunge
untere Schneidezähne
Unterlippe stark geschwollen
große plantare Aphthen, bereits entlympht.
Volen geschwollen mit Aphthen

Fig. 2. Maulhöhle (aufgeschnitten), r. Planten, l. Volen.

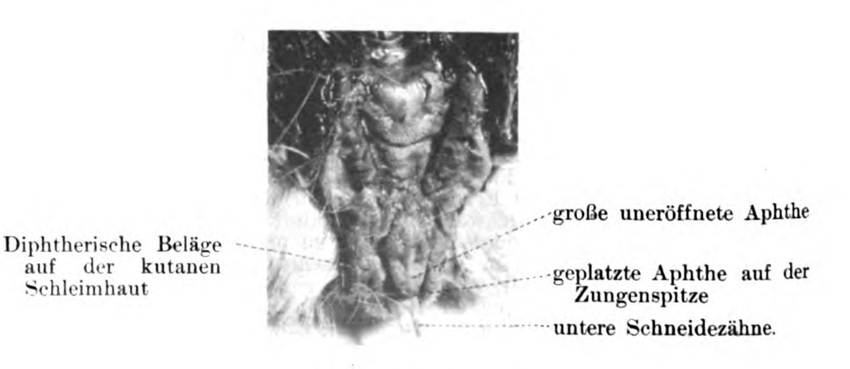


Fig. 3. Unterkiefer.

Tabelle I.

Kultur	Gen.	Angelegt am	Verimpft am	Meerschw. Nr.	Krankheitsbild[1])
408	2.	10. 10. 25	13. 10.	2358	14. h. r. beginnende A.; 15. b. An.; 16. nach vorn bis an die Zehen übergreifende An., Maul diphtherische Beläge; 17. Zunge An.
408	14.	21. 11. 25	26. 11.	2833	29. An. h. b.; 30. An. stark nach vorn übergreifend, auch auf Zehen bzw. Krallenbett, V. stark geschwollen und An., Zunge An., Nase und Maulspalt Krusten, Backenschleimhaut stark mazeriert.
409	2.	10. 10. 25	13. 10.	2359	14. h. r. beginnende A.; 15. b. An.; 16. An. an den Planten greifen bis auf die Zehen über, V. geschwollen, Maul diphtherische Beläge; 17. V. An.
409	14.	21. 11. 25	26. 11.	2834	28. morgens A. h. l.; abends b.; 29. An. nach vorn bis an die Zehen übergreifend, V. geschwollen, Nasenausfluß, Backenschleimhaut mazeriert, pelzig; 30. V. An., Zunge A., Unterlippe mazeriert, am oberen Rande braune Kruste und Geschwürsbildung, am Zahnfleisch zwischen den beiden unteren Schneidezähnen große, gelbe Blase mit eitrigem Inhalt, der sich nach oben gegen die Zähne hin ausdrücken läßt; Backenschleimhaut gelb, leicht diphtherisch verändert, Tier abgemagert.
537	2.	1. 12. 25	7. 12.	2954	8. abends A. h. r.; 9. b. An., die nach vorn bis an die Zehen übergreifen; 10. V. geschwollen und An.
537	12.	16. 1. 26	22. 1.	3395	27. An. b.; bis an die Zehen nach vorn übergreifend, V. geschwollen; 28. V. An.
538	2.	1. 12. 25	7. 12.	2955	8. abends A. h. r.; 9. an beiden Planten An. bis an die Zehen übergreifend; 10. V. dick geschwollen und An., Zunge mazeriert.
538	12.	16. 1. 26	22. 1.	3396	24. Zunge leicht belegt; 25. A. h. l., Backenschleimhaut mazeriert; 26. An. an den Planten beiderseits auf die Zehen übergehend, V. geschwollen und An.; 28. Zunge mazeriert, Backenschleimhaut geplatzte An.; 29. Tier leicht abgemagert.
539	2.	1. 12. 25	7. 12.	2956	8. abends h. b. An.; 9. An. nach vorn bis an die Zehen übergreifend, Zunge und Backenschleimhaut mazeriert. 10. V. stark geschwollen und An.; Maulwinkel diphtherische Beläge.
539	18.	15. 2. 26	24. 2.	3599	26. A. h. r.; 27. Maul diphtherische Beläge, starkes Speicheln, Zunge schwere An., Abmagerung; 28. An. h. b., Tier schwer krank, stinkender Geruch aus dem Maul, 1. 3. Fersenbeinhöcker r. frische A., V. An., Unterlippe stark geschwollen, Diphtherien, am Maul verheerende Veränderungen; 2. 3. stärkstes Speicheln, Haare an der Brust vollkommen verklebt. 3. 3. gestorben.

1) A. bzw. An = Aphthe bzw. Aphthen, h = hinten, r. = rechts, l. = links, b. = beiderseits, V = Volen.

Kultur	Gen.	Angelegt am	Verimpft am	Meerschw. Nr	Krankheitsbild
407	**2.**	10. 10. 25	13. 10.	2357	**15. An. b.; 16. An. greifen bis an die Zehen über, Maul pappig, Zunge A., V. geschwollen, starker Speichel, Durchfall; 20. gestorben.**
407	**34.**	25. 2. 26	2. 3.	3626	**5. Backenschleimhaut mazeriert; 6. An. b., Unterlippe diphtherische Beläge, geschwollen, Backenschleimhaut auf beiden Seiten hanfkorngroßer Defekt mit gelbem diphtherischem Rand; 7. An. nach vorn bis an die Zehen übergreifend, V. geschwollen und An., Zunge leicht pappig, abgemagert.**

Bei der Neuheit der Materie scheint es uns angezeigt, über diese Ausführungen hinaus einige Gesichtspunkte für die Deutung der vorstehenden Tabellen anzuführen. Wir müssen uns dabei auf unsere subjektive Auffassung stützen, glauben aber, objektiv das richtige Urteil abzugeben, da unsere bei vielen Hunderten von Infektionen gemachten Beobachtungen uns diese Deutung zuzulassen scheinen. Bei unseren Züchtungsversuchen, wenn man sie in der Gesamtheit übersieht, tritt immer wieder eine gewisse Periodizität hervor. Diese äußert sich zeitweilig gesondert im Befall der Zungen, des Maules, der Volen. Es wechselt also das Krankheitsbild. Zu Zeiten ist das Virus besonders virulent (Schwere des Krankheitsbildes), zu Zeiten sind die späteren Generationen in ihrer Gesamtheit nach unserer Auffassung pathogener wie die Ausgangskulturen oder die niedrigen Generationen. In der gegenwärtigen Arbeitsperiode ist im allgemeinen anscheinend das Gegenteil der Fall. Oft sind wohl die erwähnten feinen Unterschiede in der Zusammensetzung der Nährböden dafür verantwortlich zu machen, vielleicht auch Momente, die außerhalb derselben liegen. Die zweiten Generationen der Kulturen 408, 409, 537—539 haben z. B. alle in 1—$1^1/_2$ Tagen plantare Infektionen gesetzt. Bei der Kultur 407 hat die lokale Inkubation 2 Tage gewährt. Die höheren Generationsfolgen zeigen eine längere lokale Inkubation. So währt sie bei der 14. Generation von Kultur 405 und 409 etwa $2^1/_2$ bzw. $1^1/_2$ Tage, bei Kultur 537—539 $4^1/_2$ bzw. $1^1/_2$ Tage, bei 407, 34. Generation, $2^1/_2$ Tage, ein Umstand, den man bei der letzteren Kultur gegebenenfalls auch mit einer gewissen leichten Abschwächung des Virus in dieser hohen Generationsfolge erklären könnte.

In gar nicht seltenen Fällen wurde beobachtet, daß eine lokale Erkrankung nicht, sondern nur eine leichte oder schwerere Allgemeinerkrankung eintrat, die im allgemeinen zur Entstehung von Aphthen auf der Zunge oder Veränderungen an der Backenschleimhaut führte. Tabelle II soll dies an einer Reihe von Beispielen vorführen.

Wenn nicht ganz einwandfreie Befunde konstatiert werden, wo die Veränderungen, wie starkes Speicheln, geplatzte Aphthen auf der Zunge und schwere Allgemeinerkrankung in die Augen springend sind, muß die Beurteilung, ob eine Infektion als positiv angesehen werden kann oder nicht, mit einer gewissen Reserve vorgenommen werden. Nicht in allen bzw. sogar in den wenigsten dieser Fälle gelingt der Nachweis

Tabelle II.

Kultur	Gen.	Angelegt am	Verimpft am	Meerschw. Nr.	Krankheitsbild
408	**24.**	7. 1. 26	11. 1.	3307	**16. Zungenspitze geplatzte A.**
409	**25.**	11. 1. 26	18. 1.	3367	**23. Maul diphtherische Beläge, Zunge An.; 24. Zunge ganz große An., harter Gaumen vollkommen pappig, Atemnot, Abmagerung, Nasenausfluß, Unterlippe stark geschwollen, kleinste An., Backenschleimhaut mazeriert, geplatzte A. r. und l.**
537	**11.**	11. 1. 26	18. 1.	3370	**20. Backenschleimhaut stark mazeriert, geplatzte A.; 23. Zunge vorn Epitheldefekt; 24. Zunge wulstig geschwollen.**
408	**26.**	23. 1. 26	28. 1.	3426	**31. Zunge leicht belegt, Maulwinkel leichte Diphtherien. 2. 2. Zunge im vorderen Teil aufgerauht, Backenschleimhaut l. durchfeuchtet, r. weißliche punktförmige Diphtherien.**
537	**14.**	2. 2. 26	8. 2.	3509	**13. Maul unsauber, diphtherische Beläge; 15. schwere diphtherische Beläge an der Backenschleimhaut.**
409	**33.**	22. 2. 26	25. 2.	3611	**2. 3. Zungenübergang vom vorderen zum mittleren Drittel fast vollständig von Epithel entblößt.**

der Infektiosität derartiger Veränderungen; der Grund ist wohl darin zu suchen, daß der Speichel nicht rechtzeitig verimpft worden ist; denn das Sichtbarwerden von geplatzten Aphthen auf der Zungenspitze oder der Backenschleimhaut ist meist schon der Endpunkt für das infektiöse Stadium.

Die spontane Infektion der Meerschweinchen mit Maul- und Klauenseuche wird von allen auf diesem Gebiete tätigen Forschern abgelehnt. Gesunde, unverletzte Tiere werden niemals, auch wenn sie mit schwerkranken zusammensitzen, von der Seuche befallen. Es ist jedoch die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß Tiere, die zu viert mit skarifizierten Planten in einem Käfig sitzen, wie es in unseren Versuchen wegen absoluten Platzmangels der Fall ist, sich durch das am Torf, Heu oder Stroh haftende Virus aus den geplatzten plantaren oder sonstigen Aphthen anderer Tiere infizieren. Gerade bei bestimmten höheren Generationen unserer Kulturen lag der Verdacht einer solchen Ansteckung nahe. Ein Ueberblick über die Gesamtheit unserer Versuche, Kontrolle der Protokolle der zusammen in einem Käfig sitzenden Tiere, schließlich besondere Vorsichtsmaßnahmen, die wir an anderer Stelle mit den einschlägigen Versuchen zusammen belegen werden, haben uns jedoch zu der Erkenntnis geführt, daß die skarifizierten Meerschweinchen wohl durch infizierte Streu gefährdet sind, daß in anderen Fällen aber auch im gut desinfizierten, sicher nicht infektiösen Käfig mit frischer Streu die mit hohen Generationen geimpften Tiere erkrankten.

Die Ergebnisse von Impfversuchen mit Subkulturen, die sich nur bis zur 2.—3. Generation fortführen lassen, sind, wie erwähnt, nach unserer Auffassung nicht ohne weiteres als Beweis für eine Vermehrung des Erregers anzusprechen, selbst wenn

das Virus in den Kontrollen ohne Zusatz entsprechender Nährsubstrate zugrunde gegangen ist. In solchen Fällen stellt eben die Zusammensetzung der Nährböden ein gutes Konservierungsmedium für den Erreger der Maul- und Klauenseuche dar, der wegen seiner hohen Empfindlichkeit in nicht für ihn geeigneten Nährböden, worauf wir wohl als erste immer wieder hingewiesen haben, schnell zugrunde geht.

Aus meinen Versuchen geht mit Bestimmtheit hervor, daß die heute übliche Form der Konservierung des Virus in Glyzerin-Kochsalzlösung usw. bei weitem durch andere Medien übertroffen wird. Wir behalten uns vor, auf diese Frage, noch zurückzukommen.

Nicht viel anders wie unter dem oben erwähnten Gesichtspunkte können wir bis zum heutigen Tage die Ergebnisse beurteilen, wo wir durch Zusatz von färbenden Substraten wie Lackmustinktur und -molke versucht haben, Anhaltspunkte über das Wachstum des Erregers zu bekommen. Wir sahen in der 1.—3. Generation leichte, etwa in das Milchig-violette gehende Verfärbungen derartiger mit Zusätzen versehener Nährsubstrate, während die unbeimpften Kontrollen eine etwas lebhaftere und klarere violette Färbung zeigten. Wir haben keine in dieser Beziehung eindeutigen Ergebnisse erhalten, wenn wir ähnliche Versuche mit höheren, nach dem Infektionsversuch positiven Kulturen und Kontrollen ausführten. Unter diesem Gesichtspunkte glauben wir auch die jüngst ohne nähere Angabe erfolgte Dahmensche Mitteilung zu diesem Punkte, einstweilen betrachten zu müssen, obwohl wir nicht wissen, um welchen Farbenumschlag bzw. welche Technik es sich dabei handelt.

Literatur.

1) Pfeilers neue Maul- und Klauenseuche-Forschungsergebnisse. (Tierärztl. Rundsch. 1925. Nr. 36.) — 2) Pfeiler, Grundsätzliches zur Erforschung und Züchtung d. Virus d. Maul- u. Klauenseuche. (Ibid. 1925. Nr. 37.) — 3) Ruppert, Contribucion al cultivo del agente de la fiebre aftosa. (Revist. de la facult. de med. veterin. T. 1. 1924. Nr. 3.) — 4) Pfeiler-Simons, Ueber die physikalischen Grenzen objektähnlicher Abbildung von filtrierbaren Virusarten und anderen Objekten durch ultraviolettes Licht (U.V. Licht) u. die Verwertung der Photographie im U.V. Licht überhaupt. (Klin. Wochenschr. 1925. Nr. 6.) — 5) Dahmen, Der gegenwärtige Stand der Maul- und Klauenseucheforschung. (Berl. Tierärztl. Wochenschrift. 1925. Nr. 45.) — 6) Hutyra-Marek, Spez. Pathol. u. Therap. d. Haustiere. Jena (Gust. Fischer) 1922. Bd. 1. S. 388. — 7) Brachmann, Zur Frage d. Virulenzbestimmung durch Verdünnung d. virushaltigen Materials bei Maul- u. Klauenseuche. (Dtch. tierärztl. Wochenschr. 1925. Nr. 33.) — 8) Kallert, Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche. I. u. II. Mitteil. (Arbeiten a. d. Kais. Gesundh.-Amt. Bd. 47. 1914. N. 4.). — 9) Pfeiler, Entwicklung von Maul- u. Klauenseuche-Virus im Reagenzglas bzw. Gewebskulturen. (Mitteil. d. Tierseuchenst. d. Thür. Landesanstalt f. Viehvers. Jg. 2. 1922. H. 3.) — 10) Pfeiler-Standfuß, Ueber Versuche z. Schutzimpfung gegen Schweinepest mit sensibilisiertem Virus. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Abt. I. Orig. Bd. 25. 1916. H. 2/3.) — 11) Dahmen, Züchtung und Morphologie des Erregers der Lungenseuche und der Maul- u. Klauenseuche. (Ber. üb. d. 10. Tagung d. dtsch. Vereinig. f. Mikrobiol. im Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 93. 1925. S. 125.) — 12) Pfeiler-Goerttler, Zur Züchtung d. Kultur-Virus d. Maul- u. Klauenseuche. Seine Identifizierung mit Hilfe von Immunitätsreaktionen. (Tierärztl. Rundsch. 1922. Nr. 26.)

Ueber verschiedene, zur Isolierung pathogener Darmbakterien dienende Nährböden und über Verbesserungen derselben.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (Prof. Dr. Kobayashi) des Pathologisch-bakteriologischen Instituts der Universität Keio, Tokyo (Direktor: Baron Prof. Dr. S. Kitasato).]

Von Dr. **R. Nodake.**

Mit 5 Abbildungen im Text.

I. Ueber Endo-Nährboden.

Gelegentlich konnte ich feststellen, daß Dysenteriebakterien beim Wachstum auf Endo-Nährboden morphologische Aenderungen aufweisen. Werden diese Bazillen nämlich auf Endo-Agar geimpft, so werden sie auffallend länger. Sie können sogar Fadenform annehmen und ineinander verschlungen sein, so daß sie in ihrem Aussehen überhaupt nicht mehr an Dysenteriebakterien erinnern. Wie ich weiter beobachten konnte, erfahren aber nicht nur die Ruhrbazillen, sondern überhaupt alle Darmbakterien, und zwar sowohl die pathogenen als auch die nicht pathogenen Arten bei der Züchtung auf dem Endoschen Nährboden mehr oder weniger weitgehende Gestaltsänderungen. Am deutlichsten ausgesprochen sind dieselben allerdings bei den Dysenteriebazillen und auch bei den Colibakterien, während die Angehörigen der Typhus-Paratyphusgruppe, sowie die Choleravibrionen weniger stark beeinflußt werden.

Die Einwirkung des Endo-Nährbodens auf die verschiedenen darauf gezüchteten Darmbakterien besteht darin, daß diese länger und dicker werden. Der Dysenteriebazillus verändert sich häufig derart, daß an seinem einen Ende eine keulenförmige Anschwellung auftritt. In anderen Fällen ist statt dessen im Bakterienprotoplasma der auf Endo-Agar kultivierten Ruhrbazillen das Auftreten von besser und schlechter färbbaren Partien, also eine Art Segmentierung, schließlich auch, wie schon erwähnt, gelegentlich ein fadenförmiges Auswachsen der einzelnen Stäbchen zu beobachten. Der Choleravibrio krümmt und verlängert sich bei der Züchtung auf Endo-Agar; häufig nimmt er aber auch die Form eines langen Bazillus an, indem die Krümmung nachläßt.

Es ergab sich nun weiterhin, daß auf einem Endo-Agar, dem Eiereiweiß zugesetzt ist, die oben aufgeführten Bakterienarten im allgemeinen nur eine geringe Formveränderung erleiden, während sie auf dem in gewöhnlicher Weise ohne Eiereiweißzusatz bereiteten Nährboden nicht nur die erwähnten morphologischen Veränderungen erfahren, sondern, wie ich für manche Stämme des Dysenteriebazillus (Typus Shiga) und des Typhusbazillus feststellen konnte, sich unter Umständen **überhaupt nicht entwickeln.** Die Ursache der Formveränderung und der Wachstumshemmung der genannten Bakterien beruht nun offenbar auf dem Gehalt des Endo-Nährbodens an Fuchsin. Wird nämlich der Fuchsinzusatz zum Agar vermehrt oder

kommt ein besonders wirksames Fuchsinpräparat zur Verwendung, so entwickeln sich auf einem solchen Nährboden die oben erwähnten Stämme mit schwacher Resistenz überhaupt nicht, selbst wenn dem Medium Eiereiweiß zugesetzt wird.

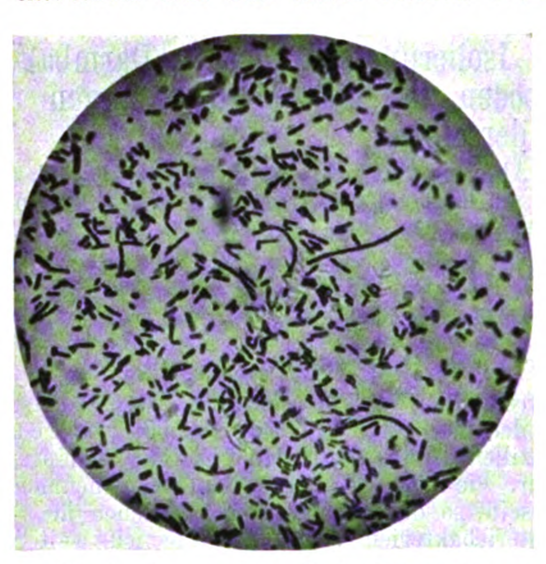


Fig. 1. Dysenterie-B. (Endo-Nährboden mit Eiereiweißzusatz).

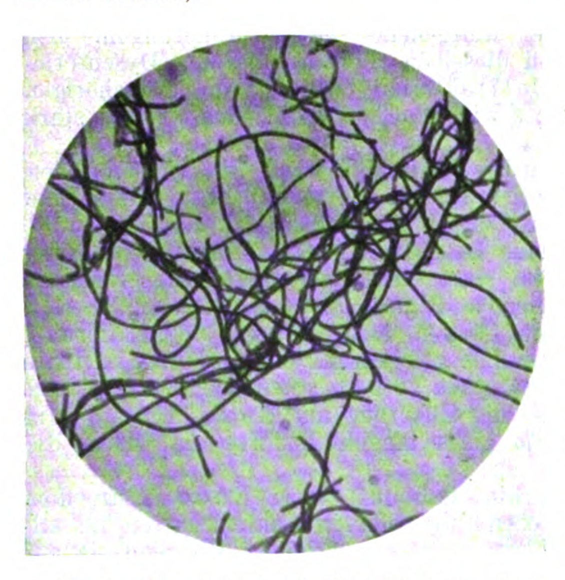


Fig. 2. Dysenterie-B. (Endo-Nährboden ohne Eiereiweißzusatz).

Kister empfahl zur bakteriologischen Untersuchung der an Pest eingegangenen Ratten den Endo-Nährboden. Er weist darauf hin, daß auf dem Endo-Agar die Isolierung der Pestbazillen durch gleichzeitig vorhandene Proteusbazillen nicht erschwert wird, weil diese auf dem Fuchsin-Natriumsulfit - Nährboden nicht, wie auf den sonst üblichen Medien ein gleichmäßiges, hauchartiges Wachstum zeigen, sondern nur umschriebene Kolonien bilden. Bei meinen diesbezüglichen Versuchen mit Proteusbazillen (Proteus vulgaris) konnte ich entsprechend den Angaben von Kister auf dem mit gewöhnlichem Fuchsin oder mit Säurefuchsin hergestellten Endo-Nährboden ohne Zusatz von Eiereiweiß keinen hauchartigen Belag konstatieren. Dagegen bildeten dieselben Proteus-Stämme auf einem mit Eiereiweiß versetzten Endo-Agar keine umschriebenen Kolonien, sondern einen gleichförmigen hauchartigen Belag. Wurde nun aber statt des gewöhnlichen Fuchsins oder des Säurefuchsins das „Fuchsin für Bazillenfärbung, Dr. G. Grübler“ verwendet, so war auch in dem mit Eiereiweiß versetzten Endo-Nährboden kein hauchartiges Wachstum des Proteus zu beobachten. Weiterhin konnte ich feststellen, daß sich manche Stämme des Dysenteriebazillus (Typus Shiga) und des Typhusbazillus auf einem solchen Endo-Agar, auf welchem der Proteus-Bazillus keinen hauchartigen Belag, sondern nur umschriebene

Einzelkolonien bildet, nicht entwickeln, wie die in den Tabellen 1 u. 2 zusammengestellten Versuchsergebnisse zeigen.

Auf Grund dieser Resultate habe ich nun versucht, den Endo-Nährboden zu verbessern. Ich ging dabei von folgenden Feststellungen aus:

1) Die wachstumshemmende Eigenschaft des Säurefuchsins ist bedeutend geringer, als diejenige des gewöhnlichen Fuchsins; das Verhältnis der entwicklungshemmenden Eigenschaften der beiden Farbstoffpräparate verhält sich im allgemeinen wie 1:100. Auch hinsichtlich der Farbintensität steht das Säurefuchsin dem Fuchsin nach; das gegenseitige Verhältnis beträgt hier aber nur ungefähr 1:10. Bei den Versuchen, deren Resultate in der nachfolgenden Tab. III aufgeführt sind, wurde von 1proz. Lösungen des Fuchsins, bzw. Säurefuchsins in Bouillon ausgegangen. Fallende Mengen dieser Originallösungen bzw. von Verdünnungen derselben wurden dann mit gewöhnlicher Bouillon auf das Volum. von 10 ccm aufgefüllt, beimpft und bebrütet. Dabei ergab sich, daß sich sowohl beim Shigaschen Dysenteriebazillus, als auch beim Typhusbazillus Stämme mit starker und schwacher Resistenz gegenüber dem Fuchsin unterscheiden lassen; die Fuchsinempfindlichkeit mancher Stämme ist 10 bis 100fach größer als diejenige anderer Kulturen derselben Bakterienart.

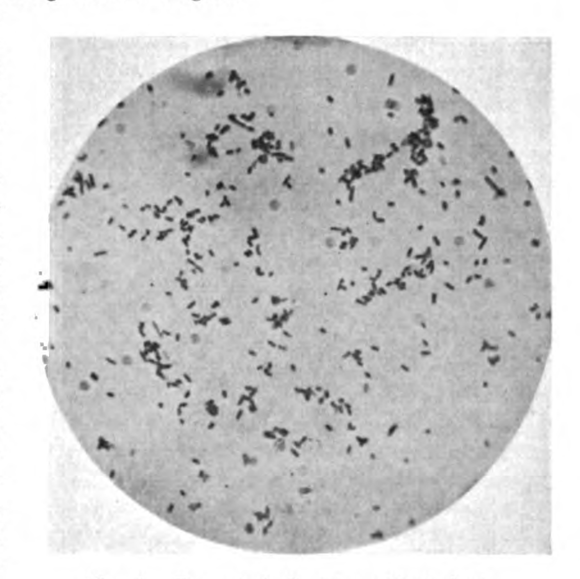


Fig. 3. Dysenterie-B. (Agarnährboden).

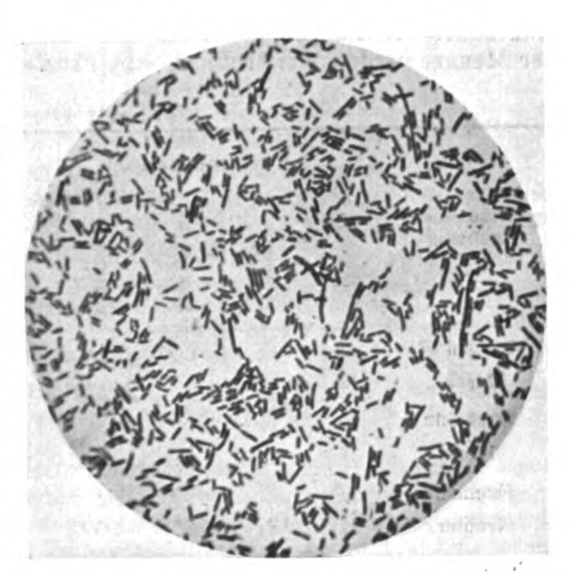


Fig. 4. Typhus-B. (Endo-Nährboden ohne Eiereiweißzusatz).

2) Die in einer gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung enthaltene Fuchsinmenge ist wechselnd, die Konzentration der Lösung hängt wesentlich von der zur Sättigung verwendeten Zeit ab.

3) Auf Grund vielfacher Versuche gibt ein Milchzucker-Gehalt des Nährbodens von 2 Proz. die besten Resultate.

Der Endo-Agar ist nach der Originalvorschrift folgendermaßen zusammengestezt: 1000 ccm neutraler Nähragar (3proz. Agar), 10 g chemisch reiner Milchzucker, 5 ccm alkoholische Fuchsinlösung, 25 ccm einer 10proz. Natriumsulfitlösung und 10 ccm einer 10proz. Sodalösung. Der von mir auf Grund meiner Versuche verbesserte Endo-Nährboden wird folgendermaßen bereitet: 1000 ccm Fleischwasser (aus 500 g Fleisch) werden mit 30 g Agar, 10 g Pepton und 5 g Kochsalz versetzt, erhitzt und in der üblichen Weise mit 10 ccm einer 10proz. Sodalösung neutralisiert. Dem Gemisch werden sodann nach Abkühlung auf 50—60° 50 bis 60 ccm Eiereiweiß (Eiweiß von 2 Eiern mittlerer Größe) zugegeben. Nach kräftigem Durchschütteln wird der Nährboden im Dampftopf erhitzt und sodann filtriert. Nach Bestimmung der Menge werden weiterhin 2—2½ Proz. chemisch reinen Milchzuckers,

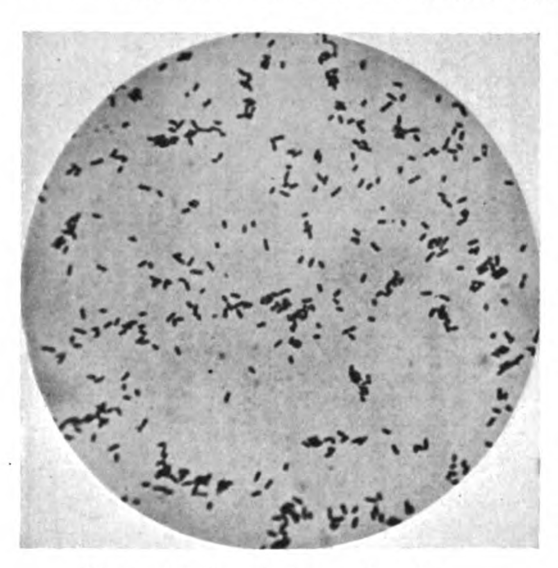


Fig. 5. Typhus-B. (Agarnährboden).

Tabelle I[1]).

Arten des Fuchsins	Herstellung	Dysenterie-B. Himeno	Dysenterie-B. Nakanishi	Dysenterie-B. Kubo	Paradysenterie-B. I	Paradysenterie-B. II	Paradysenterie-B. III	B. proteus
Fuchsin S	A	○	⊙	⊙	⊙	⊙	○	K H
Merck	B	△	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	K H
Fuchsin	A	○	⊙	⊙	⊙	⊙	○	K H
Merck	B	△	○	□	⊙	⊙	○	K
Fuchsin	A	○	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	K H
Grübler	B	△	○	○	⊙	⊙	□	K
Fuchsin f. Bac.	A	△	⊙	⊙	⊙	⊙	○	K
Grübler	B	△	⊙	⊙	⊙	⊙	○	K

1) Erklärung der Zeichen in den Tabellen I, II und IV:

⊙ Typische Kolonien von gewöhnlicher Größe.
○ Bakterienentwicklung, aber im allgemeinen nur kleine Kolonien.
□ Aeußerst kleine, leicht zu übersehende Kolonien.
△ Keine Bakterienentwicklung.
K Umschriebene Einzelkolonien.
H Hauchartiges Wachstum.
A Endo-Nährboden mit Eiereiweißzusatz.
B Endo-Nährboden ohne Eiereiweißzusatz.

Tabelle II.

Arten des Fuchsins	Herstellung	Dysenterie-B. (Shiga-B.)																							Para-dysenterie-B		Typhus-B.	
		Dysenterie Nr. 28	Dysenterie Nr. 9	Shiga Nr. 1	Shiga Nr. 2	Dysenterie K	Fujimoto	Kurihara	Dysenterie Nr. 1	Kamiyama	Shimoyama	K U	Ohkura	Asanao	Lognae	Dysenterie Nr. 297	Perker	Miyajima	P.	Shiraishi	Tsutsui	Mizushima	Uchida	Kabeshima	P. D. III	Ozaki und andere 22 Stämme	T. 35 Fujimoto	Suzuki und andere 23 Stämme
Fuchsin Merck	B	△	△	○	△	□	△	○	□	□	⊙	□	□	△	△	△	△	□	△	□	□	○	□	△	○	⊙	△	⊙
Fuchsin S Merck	B	□	□	⊙	△	□	△	⊙	⊙	○	⊙	□	□	□	⊙	○	□	○	⊙	⊙	⊙	⊙	○	△	○	⊙	△	⊙

Tabelle III[1]).

1-proz. Lösung des Farbstoffs in Bouillon		Bouillon	Konzentration des Farbstoffs	Fuchsin „Merck" kleine Kristalle							Säurefuchsin „Merck"						
				Dysenterie-B.			Typhus-B.		Coli-B.	Farbton	Dysenterie-B.			Typhus-B.		Coli-B.	Farbton
				Himeno	Shimoyama	P. D. II	T. 35. Fujimoto	Suzuki			Himeno	Sbimoyama	P. D. II	T. 35. Fujimoto	Suzuki		
Orig.	10	0	1 %	.	.	.	.	.	.	dunkelrot	—	+	+	.	+	+	dunkelrot
„	5,0	5,0	0,5 „	.	.	.	.	.	.	„	+	+	+	.	+	+	„
„	1,0	9,0	0,1 „	.	.	.	.	.	.	„	+	+	+	.	+	+	hellrot
„	0,5	9,5	0,05 „	.	.	.	.	.	.	„	+	+	+	.	+	+	rosarot
„	0,25	9,75	0,025 „	.	.	.	.	—	—	„	+	+	+	—	+	+	.
1:10	1,0	9,0	0,01 „	.	.	.	.	+	+	hellrot	+	+	+	+	+	+	.
1:10	0,5	9,5	0,005 „	.	—	—	.	+	+	rosarot	+	+	+	+	+	+	.
1:10	0,25	9,75	0,0025 „	.	+	+	.	+	+	.	+	+	+	+	+	+	.
1:100	1,0	9,0	0,001 „	.	+	+	.	+	+	.	+	+	+	+	+	+	.
1:100	0,5	9,5	0,0005 „	—	+	+	.	+	+	.	+	+	+	+	+	+	.
1:100	0,25	9,75	0,00025 „	+	+	+	—	+	+	.	+	+	+	+	+	+	.
1:100	0,1	9,9	0,0001 „	+	+	+	+	+	+	.	+	+	+	+	+	+	farblos
Kont.	0	10,0	0	+	+	+	+	+	+	farblos	+	+	+	+	+	+	„

0,25 Proz. einer 2proz. alkolischen Fuchsinlösung, 0,25 Proz. einer 10proz. Säurefuchsinlösung und 2,5—3 Proz. einer 10proz. Lösung von Natrium sulfurosum zugefügt. Das Ganze wirt gut durchgemischt, in Reagensröhrchen zu je 15 ccm abgefüllt und an 2—3 aufeinanderfolgenden Tagen je $1/2$ Stunde lang im Dampftopf sterilisiert. Zur Aufbewahrung des Nährbodens dient ein kühler und dunkler Raum.

II. Ueber den Drigalski-Conradischen Nährboden.

Um das Wachstum der Staphylokokken zu verhindern, ist im Drigalski-Conradischen Nährboden Kristallviolett und zwar

1) Es bedeutet hier + Wachstum, — kein Wachstum.

10 ccm einer 0,1proz. Kristallviolettlösung auf 1 Liter des Nährbodens enthalten. Wie ich nun feststellen konnte, genügt dieser Kristallviolettzusatz, um die Entwicklung der oben erwähnten Typhus-Stämme mit schwacher Resistenz vollkommen zu unterdrücken (Tabelle IV). Da

Tabelle IV.

Agar-Nährboden mit Zusatz von Nutrose	Zu 1 l Nährboden		Stämme						
	Lackmuslösung nach Kubel u. Tiemann (Kahlbaum)	0,1-proz. Kristallviolettlösung	Dysenterie-B.		Typhus-B.		Staphylo-K.		
			Himeno	P. D. I	T. 35 Fujimoto	Takamatsu	citreus	albus	aureus
	130,0 ccm	10,0 ccm	⊙	⊙	△	⊙	△	△	△
	130,0 „	5,0 „	⊙	⊙	○	⊙	△	△	△
	130,0 „	2,5 „	⊙	⊙	⊙	⊙	△	△	△
	130,0 „	1,0 „	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙

nach meinen Erfahrungen zur vollständigen Verhinderung des Staphylokokkenwachstums schon 2,5 ccm der Kristallviolettlösung (auf 1 Liter Nährboden) ausreichen, ist es daher ratsamer, von der Farbstofflösung nicht 10 ccm, sondern nur 2,5 ccm zu verwenden. Da die Entwicklung der Staphylokokken die Isolierung der pathogenen Bakterien im allgemeinen kaum wesentlich erschwert, kann auf den Kristallviolettzusatz auch vollkommen verzichtet werden.

Nach der Originalvorschrift soll zur Herstellung des Drigalski-Conradischen Nährbodens eigentlich Lackmuslösung nach Kubel und Tiemann (Kahlbaum) als Indikator Verwendung finden. Bei meinen Versuchen behalf ich mich nun aber mit einer anderen Lackmuslösung, weil jene einmal ziemlich kostspielig und dazu bei uns in Japan nur schwer erhältlich ist. In Japan wird daher die Lackmuslösung im allgemeinen aus „Litmus granular“ hergestellt. Die Farbintensität einer aus Litmus granular May und Baker, London hergestellten Lackmuslösung ist etwa 8—10mal schwächer, als diejenige einer entsprechenden Lösung von Litmus granular I extra pure Merck. Die Farbintensität einer aus Litmus granular I hergestellten Lösung steht etwa in der Mitte. Daraus ergibt sich aber, daß man diese verschiedenen Lösungen bei der Bereitung eines Drigalski-Conradi-Nährbodens nicht in gleichen Mengen verwenden darf, und est ist verständlich, daß auf einem Nährboden, dem man entsprechend den Anweisungen der Lehrbücher 20 ccm einer mit Litmus granular I extra pure Merck hergestellten Lackmuslösung pro Liter zusetzte, bestimmte Stämme des Dysenterie- und des Typhusbazillus sich überhaupt nicht entwickelten. Es empfiehlt sich daher, bei der Bereitung eines Drigalski-Conradi-Nährbodens von derartigen Lösungen so wenig, wie möglich, d. h. nur soviel zu verwenden, als zur Erkennung des Farbunterschiedes zwischen Colibazillus einerseits, den pathogenen Darmbakterien andererseits erforderlich ist.

Um ein Wachstum von Proteus-Bazillen zu verhindern, empfiehlt B. Süring, den Drigalski-Conradi-Agar mit Karbolsäure zu versetzen. Wie ich aber feststellen konnte, genügt der von Süring angegebene Karbolsäurezusatz, um auch das Wachstum mancher Stämme des Dysenterie- und des Typhusbazillus zu unterdrücken.

III. Ueber den Nährboden nach Guth.

Der im Jahre 1909 von Guth zur Isolierung des Typhusbazillus empfohlene alizarinhaltige Nährboden hat sich nach der Angabe der Autoren in der Praxis wenig bewährt. Wie ich nun aber durch entsprechende Versuche feststellen konnte, ist dieser Guthsche Nährboden zur Unterscheidung der pathogenen Darmbakterien vom Colibazillus recht gut zu gebrauchen. Allerdings gedeihen auf dem nach der Originalvorschrift hergestellten Nährboden die schon mehrfach erwähnten Dysenterie- und Typhus-Stämme mit schwacher Resistenz nur schlecht. Von der Annahme ausgehend, daß das Versagen des Nährbodens in solchen Fällen durch den zu hohen Gehalt an Alizarin und Natriumhydroxyd, sowie durch das Fehlen von Eiereiweiß bedingt sei, habe ich die Zusammensetzung des Substrats entsprechend abgeändert.

Die von mir erprobte Modifikation des Guthschen Nährbodens, welche ein gutes Wachstum auch der wenig resistenten pathogenen Darmbakterien ermöglicht, wird folgendermaßen bereitet:

Lösung A: Fleischwasser 1000,0 ccm, Agar 30,0, Pepton 10,0, Kochsalz 5,0; nach Erhitzen Zusatz von 10,0 ccm 10proz. Sodalösung. Zu dem auf 50—60° abgekühlten Gemisch wird das Eiweiß von 2 Eiern zugegeben; die Lösung wird gut durchgemischt, im Dampftopf sterilisiert und filtriert.

Lösung B: 0,4—0,5 g (nach Guth 0,8) Alizarin und 0,3 g (nach Guth 0,6 g) Natriumhydoxyd werden in 100,0 ccm destillierten Wassers eingebracht; die Flüssigkeit wird 2—3 Minuten lang gekocht und dann mit 15—20 g Milchzucker versetzt und gut umgeschüttelt.

Die beiden Lösungen A und B werden vereinigt und gut durchgeschüttelt. Das Gemisch wird zu je 20 ccm in Reagenzröhrchen abgefüllt und an 2—3 aufeinanderfolgenden Tagen je $^1/_2$ Stunde lang im Dampftopf sterilisiert. Die Röhrchen werden sodann in einem kühlen dunklen Raum aufbewahrt.

IV. Vergleichende Untersuchungen über andere, zur Isolierung pathogener Darmbakterien empfohlener Nährböden.

Für Zwecke der Isolierung pathogener Darmbakterien sind bis jetzt zahlreiche Methoden und Nährböden angegeben worden. Bei spärlichem Vorhandensein der fraglichen Erreger sind die Verfahren von Ali-Cohén, Pasquale und Gabritschewski nicht geeignet. Ebenso sind die von Elsner, sowie Piorkowski empfohlenen Nährböden für die Praxis nicht brauchbar. Auf Grund der von mir durchgeführten vergleichenden Untersuchungen kann ich auch die Nährböden, welche einen Zusatz von taurocholsaurem Natrium (nach Mac Concey), Rosolsäure (nach Mandelbaum, Stahr), Malachitgrün (nach Marpmann), Phenolphthalein (nach Pfuhl, Zielleczky), Säurefuchsin und Malachitgrün (nach Kindborg) enthalten, nicht empfehlen. Von denjenigen Nährböden, welche das Wachstum des Colibazillus hemmen und die Entwicklung der gesuchten pathogenen Bakterien elektiv begünstigen sollen, haben sich mir bei entsprechender Erprobung die mit Koffein (nach Gaehtgens, Hoffmann und Ficker) bzw. mit Brillantgrün (nach Conradi) versetzten Substrate nicht bewährt, weil die schwach resistenten Stämme des Dysenterie- und des Typhus-

bazillus auf diesen Medien durch dieselben Konzentrationen der Chemikalien, welche das Gedeihen der Colibazillen unterdrücken, ebenfalls in ihrer Proliferation gehindert werden.

Zusammenfassung.

1) In dem Nährboden nach Endo verändern fast alle Darmbakterien ihre Form. Am deutlichsten verändert sich der Dysenterie-, dann der Colibazillus, während die Angehörigen der Typhus-Paratyphusgruppe und der Choleravibrio weniger beeinflußt werden. — 2) Die Formveränderungen der Bakterien kann in einem Längenwachstum, indem sie länger sogar fadenförmig werden, oder in einem Breitenwachstum, indem sie dicker werden, bestehen. — 3) In dem ohne Zusatz von Eiereiweiß hergestellten Endo-Nährboden sind nicht nur die Formveränderungen deutlicher, sondern gewisse Stämme der pathogenen Darmbakterien zeigen hier überhaupt kein Wachstum. — 4) Die Ursache der Formveränderung und der Wachstumshemmung ist auf das im Nährboden enthaltene Fuchsin zurückzuführen. — 5) Je besser die Qualitäten des verwendeten Fuchsins als Farbstoff sind, desto ausgesprochener ist seine Eigenschaft, Formveränderungen hervorzurufen und das Wachstum der Bakterien aufzuhalten. — 6) Säurefuchsin hemmt das Wachstum bei weitem nicht so stark als das gewöhnliche Fuchsin. — 7) Eierweiß, Milch und Gelatine verringern die hemmende Wirkung des Fuchsins. — 8) Die Wirksamkeit des Eiereiweißes beruht auf seinem Gehalt an einer in Alkali löslichen Substanz. — 9) Eiereiweiß, das bei der Herstellung gewöhnlicher Nährböden nur zu deren Klärung benutzt wird, spielt bei den sogenannten Elektiv-Nährböden, die einen Zusatz bestimmter Farbstoffe enthalten, offenbar noch eine wichtige Rolle, d. h. in diesen Nährböden ist das Eiereiweiß für das üppige Wachstum der pathogenen Bakterien unentbehrlich. — 10) In dem von mir verbesserten Endo-Nährboden erfolgen fast keine Formveränderungen der Bakterien. Kommt es zu einer Formveränderung, dann ist dieselbe nur schwach. In diesem Nährboden ist auch das Wachstum der Bakterien mit schwacher Resistenz die hier große Kolonien bilden, üppig. — 11) Wenn Krystallviolett in der von Drigalski und Conradi angegebenen Menge dem Nährboden zugefügt wird, zeigen hier gewisse Typhusstämme mit schwacher Resistenz kein Wachstum. — 12) Fügt man dem Nährboden von Drigalski und Conradi mehr als die festgesetzte Menge Lackmuslösung hinzu, so entwickeln sich manche Stämme des Dysenteriebazillus mit schwacher Resistenz nicht. — 13) Der von mir verbesserte Guth-Nährboden ist für die Praxis geeignet. — 14) Auf Nährböden, die soviel Koffein, Malachitgrün, Brillantgrün oder Pyronin enthalten, als zur Hemmung des Wachstums des Coli-bazillus notwendig ist, können sich die schwach resistenten Stämme der pathogenen Bakterien nicht entwickeln. —

Literatur.

1) Endo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 35. 1904. — 2) Kister, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. — 3) Kindborg, Ibid. Bd. 46. 1908. — 4) Schmidt, Ibid. Bd. 86. — 5) Barnewitz u. Flecke, Ibid. Bd. 92. 1924. — 6) Gaehtgens, Ibid. Bd. 39. 1905. — 7) Eisenberg, Wien. klin. Wochenschr. 1918. — 8) v. Drigalski u. Conradi, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. — 9) Süring, B., Ibid. 1924. — 10) Guth, Centralbl. f. Bakt. Bd. 51. 1909. — 11) Ali-Cohén, Ibid. Bd. 8. 1890. — 12) Gabritschewski, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. — 13) Elsner, Ibid. 1895. — 14) Piorkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1899. — 15) Krause, Arch. f. Hyg. Bd. 44. 1902. — 16) Kashida, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 21. 1897. — 17) Mac Concey, Ibid. Bd. 29. 1900. — 18) Dunschmann, Ann. Past. 1909. — 19) Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr. 1909. — 20) Stahr, Hyg. Rundsch. 1910. — 21) Marpmann, Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894. — 22) Bitter, Münch. med. Wochenschr. 1911. — 23) Schuster, Hyg. Rundsch. 1910. — 24) Kruse, Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1894. — 25) Remy, Ann. Past. 1900 — 26) Rawitsch-Sterba, Hyg. Rundsch. Bd. 3. — 27) Hammerschmidt, Centralbl. f. Bakt. 1906. — 28) Roth, Arch. f. Hyg. Bd. 49. 1904. — 29) Hoffmann u. Ficker, Ibid. Bd. 49. 1904. — 30) Lubenau, Ibid. Bd. 61. 1907. — 31) Gaehtgens, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. — 32) Loettler, Dtsch. med. Wochenschr. 1903. — 33) Leuchs, Ibid. 1906. — 34) Lentz u. Tietz, Münch. med. Wochenschr. 1903. — 35) Zielleczky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 32. 1902. — 36) Padlewski, Hyg. Rundsch. 1910. — 37) Fürth, Centralbl. f. Bakt. Bd. 46. 1908. — 37) Loeffler, Dtsch. med. Wochenschr. 1907. — 40) Grünbaumu. Hume, Brit. Med. Journ. 1902.

Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik.

[Aus dem hygienisch-parasitologischen Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

a) Geographische Verbreitung einiger Parasiten.

1) Microsporum audouini Gruby. Kinder (Martinac. Wallis). 2) Achorion schönleini Leb. Am Kopf, Nägeln und Körpern von 4 Kindern einer Familie (Chexbres, Waadt). 3) Piroplasma bovis Babes. Rinder (Collombey, Wallis)[1]. 4) Halteridium danilewskyi Gr. et Fel Emberiza citrinella (Les Avants, Waadt). Endozelluläre Formen spärlich, von 10×4 μ, mit Pigment, grob und zerstreut. Viele Gameten von 8—12 μ mit Pigment in der Mitte. 5) Eimeria avium Silv. et Riv. Taube (Lausanne). 6) Isospora lacazei Lab. Emberiza citrinella (Les Avants) und Carduelis elegans (Genf). 7) Isospora bigemina Raill et Luc. Katze (Lausanne). 8) Myxolobus oviformis Thél. Lota vulgaris (Lausanne). 9) M. mülleri Bütsch. Idem. 10) Spirochaeta sp. von 6—7—8 μ mit 4—5 Windungen und die Enden zugespitzt. Die längeren Formen sind dicker als die kurzen. Im Darme einer weißen Maus (Lausanne). 11) Distoma chilostomum Mehl. Vesperugo noctula (Lausanne). 12) D. ascidia van Ben. Idem. 13) D. sp. Gelblichen Eier, an einem Ende etwas zugespitzt und mit sehr deutlichem Deckel, von 60—75×50—60 μ. In Lungen und Darm einer Vipera berus (Diablerets, Waadt). 14) Dibothriocephalus latus Brems. Katze (Lausanne). Mann (Vakorbe). 15) Hymonolepis pistillum Duj.

1) Schweizer Archiv f. Tierheilk. 1925. II. 16.

Sorex alpinus (Les Avants). 16) H. bacillaris Goeze. Talpa europaea (Cossonay, Waadt). 17) H. angulata Rud. Merula nigra (Avenex, Waadt). 18) Davainea leptosoma Dies. Psittacus sp. von Madagaskar (Genf). 19) Cittotaenia marmotae Braun. Arctomys marmota (Prozzon, Wallis). 20) Tainia cyathiformis Froel. Cypselus apus (Cully, Waadt). 21) T. marginata Batsch. Hunde (Lausanne). 22) T. obtusata Rud. Vesperugo noctula (Lausanne). 23) Cysticercus fasciolaris Rud. Arvicola amphibus (Cossonay). 24) Coenurus sorialis Gerv. Kaninchen (Lausanne). 25) Ascaris ensicaudata Zed. Merula nigra (Avenex). 26) Heterakis papillosa Bloch. Huhn (Mentricher Waadt). 27) Heterakis maculosa Rud. Taube (Lausanne). 28) Oxysoma brevicaudatum Zed. Salamandra atra (La Pierreuse. Waadt). 29) Oxyuris ambigua Rud. Sehr starke Infektion bei Kaninchen (Genf). 30) Strongylus tipula van Ben. Vesperugo noctula (Lausanne). 31) Trichocephalus depressiusculus. Rud Vulpes vulgaris (Moléson. Freiburg). 32) Trichosoma tenuissimum Dies. Taube (Lausanne). 33) Trichosoma angustatum Duj. Spitza cucullata (Biel). 34) Trichosoma lorgicolle Rud. Lagopus mutus (Rochers de Naye, Waadt) und Grammont und Chaux du milieu (Wallis). 35) Spiroptera strumosa Froel. Talpa europaea (Cossonay). 36) Sarcoptes minor Fürst. Katze (Lausanne, Cossonay). 37) Microthrombidium pusillum Haller. Larven auf Phalangium sp. (Val. des Cases, Freiburg) Larven auf Menschen und frei (Pic de la Leu, Wallis) Entwickelten Formen frei (Follaterres, Wallis)[1]). 39) Pteropus vespertilionis. Gerv. Vesperugo noctula (Lausanne). 39) Ixodes ricinus L. Katze (Lausanne) Rinder (Collombey). 40) Argas reflexus Fabr. Sehr zahlreich in einem Taubenhaus in Lausanne. Sie hatten auch Menschen stark angegriffen. Einige untersuchten Tauben zeigten keine Spirochaetiasis. Ich habe 10 von diesen Argas auf einen Hahn gesetzt. Sie haben gestochen und sind von 20 Min. bis 45 Min. fixiert geblieben. aber sie haben keine Infektion erzeugt. 41) Hypoderma bovis De Geer. Rinder (Grammont). 42) Pulex erinacei Bouché. Erinaceus europaeus (Orbe, Waadt). 43) Ceratophyllus fasciatus Bosc. Myoxus quercirus (Granges-Marnand, Waadt). Diese Flöhe haben mich nicht gestochen und sie haben 6 Tage ohne zu fressen gelebt. Eine interessante Untersuchung von Kapsenberg in Holland (Brief vom 25. 4. 1925) bestätigt, was ich über diese Flöhe geschrieben habe: Innerhalb einiger Tage wurde in Groningen ein Schlafzimmer überschwemmt von Hunderten von Flöhen (Cerarphyllus fasciatus). Die Tierchen stachen aber die Leute nicht! 44) Nitzschia pulicaris N. Cypselus apus (Cully). 45) Laemobothrium giganteum N. Circus aeruginosus (Ripaille, Savoyen). 46) Haematopinus eurysternus N. Kalb (Cossonay). 47) Nabis vagans Mensch (Avenex). Hat stark gestochen. 48) Reduvius personatus L. Entwickelte Form. Fraa (Vevey). Hat stark gestochen.

b) Untersuchungen über Phytoparasiten.

1) Vom Bact. pseudotuberculosis rodentium erzeugte Cholecystitis. Bei 2 Meerschweinchen, die an Pseudotuberculosis

1) Journ. suisse de Pharm. 1925. Nr. 46 u. 47.

zugrunde gegangen waren, die Wände der Gallenblase waren sehr verdickt und die Blase selbst mit trüber, dicker Galle gefüllt. In der Galle waren die spezifischen Bakterien sehr zahlreich und diese Cholecystitis spielt sicher eine große Rolle in der Verbreitung der Pseudotuberculosis.

2) Scheidengeschwür mit Cor. diphtheriae. Bei einer Frau, die ein sehr großes Geschwür mit dickem gelblichen Exsudat zwischen Scheide und Cervix zeigte, habe ich ein Corynebacterium kultiviert, das alle die Merkmale von C. diphtheriae zeigte. Die Granula von Neisser waren sehr typisch und sehr zahlreich. Aber die Virulenz war sehr gering: Bei Meerschweinchen erzeugte er nur eine Lokalnekrose.

3) Untersuchungen über einige Fälle von Actinomycosis. In 2 Fällen von Pleuritis actinomycotica bei Menschen waren die Rasen sehr klein, weißgelblich und sehr weich. In 1 Fall waren die Keulen sehr zahlreich, kurz und dick, in dem anderen waren sie spärlich und sehr klein. In einem Fall von Actinomycosis des Unterkiefers bei einer Katze waren die Rasen größer, etwas hart, und sie zeigten sehr viele, sehr lange und sehr große Keulen. Bei einem Menschen waren die Rasen kleiner, mit kleinen Keulen. Der letzte Fall wurde mit KJ (3 g pro Tag) und Röntgenstrahlen behandelt und in einigen Monaten sind die Verletzungen verschwunden. In allen diesen Fällen hatte man an Tuberkulose gedacht. Die Aktinomyklose ist viel verbreiteter als die Aerzte denken.

4) Ueber einen Fall von Dohbie Itch. Eine Engländerin, die in China gelebt hatte, zeigte an Fingern und Zehen kleine rötliche Flecken mit gelblichen Schuppen und starkem Jucken. Die Schuppen zeigten, mit KOH behandelt, runde Sporen von 3—6 μ und verzweigte Fäden von 12×3 μ. Sporen und die Faden färbten sich sehr gut mit Thymolblau (Pianas Blau).

5) Von Mundpneumokokken erzeugte Meningitis. Ein Flieger stürzte ab und erlitt einen Bruch der Nase und sehr wahrscheinlich der Schädelbasis. Nach einigen Tagen Fieber und Meningitis. Der Liquor gibt eine Reinkultur von Pneumokokken. Die Pneumokokken des Mundes können also, wenn sie in den Liquor eindringen, sehr virulent werden und Meningitis erzeugen. Eine Trennung von virulenten und nicht virulenten Pneumokokken hat also keinen praktischen Zweck. Der Kranke war ganz allein in einem Zimmer und in keiner Verbindung mit Pneumonikern.

c) Untersuchungen über Zooparasiten.

1) Ueber einige Parasiten von Coelopeltis lacertina. Bei einer C. lacertina aus Algier, die im Laboratorium lange Monate gelebt hatte und plötzlich zugrunde gegangen war, fanden sich unter den Schuppen sehr viele Acariden, die dem Ophionyssus natricis Mégnin sehr ähnlich waren, und deren Körper ganz mit Blut gefüllt war. Keine Hämosporidien im Blute der Natter. Im Coecum fanden sich birnförmige Flagellaten von 10—12×6—8 μ, eiförmiger Nukleus von 2×1 μ, eine große Vakuole, keine undulierende Membran, Blepharoplast etwa so groß wie der Nukleus, aber dünner und länger. Geißel von 16 μ.

Im Darme: Ookysten eines Coccidiums, etwas eiförmig mit deutlicher Mikropyle von 10,5×6 μ. In Wasser gesetzt, haben sie

4 eiförmige Sporoplasten von 6×1,5 μ, mit je 2 birnförmigen Sporozoiten. Man hatte es also mit einer Isospora zu tun, die den Name I. coelopeltis tragen könnte.

Bei einer anderen Coelopeltis fanden sich im Darme sehr viele Amöboeben, die im Ruhezustande etwas rundlich, von 19—16×10—17 μ waren. Ektoplasma etwas durchsichtiger als das Endoplasma, Nukleus von 2 μ. In Bewegung zeigten diese Amöben nur ein Pseudopod von 8 μ. Cysten habe ich nicht gefunden.

3) Ueber einige Parasiten von Silberfüchsen. Bei einigen Silberfüchsen, die in Gryon (Waadt) gezüchtet worden waren, habe ich die folgenden Parasiten gefunden: Ascaris canis Werner; Uncinaria canina Erc. Trichocephalus depressiusculus Rud. Chorioptes vulpis Még. und Vermipsylla globiceps Esch.

Ch. vulpis zeigte folgende Merkmale: ♂ 375×225 μ, ♀ 350×300 μ. Nymphen 200×150 μ, Eier 200×150 μ. Er erzeugte eine sehr starke Ohrenräude, in einigen Fällen mit Durchbohrung des Trommelfelles und bakterielle Meningitis (Streptokokken und Staphylokokken), ganz ähnlich denjenigen, die ich bei Kaninchen mit Psoroptesräude der Ohren oft gesehen habe. Es ist also sehr wichtig, diese Räude sehr schnell zu diagnostizieren und zu behandeln. Die beste Behandlung, auch für Kaninchen, ist die folgende: Man setzt in den Ohren etwas mit lauwarmem Wasser gefeuchteter Watte, um die Krusten zu erweichen und dann Watte mit

Ol. carvi
Ol. cumina āā 10
Ol. amygd. 100

Ein Exemplar von V. globiceps hat mich 9 Tage gestochen, doch war der Stich nicht schmerzhaft. Die Flöhe blieben 20 Min. bis 30 Min. fixiert, und nach dem Stich bemerkte ich eine Quaddel von 5 Mill. Durchm., mit Jucken. Während jedem Stich trieben die Flöhe vom After 6 bis 14 Tropfen Blut aus.

3) Ueber einige Parasiten von Heuschrecken. 1922[1]) beschrieb ich eine große Sterblichkeit von Stetophyma fuscum, die ich im September 1921 in V. Ferret beobachtet hatte und die ich mit einer Varietät der Gregarina acridiorum Lég. in Verbindung brachte. Im September 1925 habe ich nochmals Exemplare von St. fuscum von V. Ferret untersucht, fand aber nur bei 2 (Abhänge der Bréyaz) sehr spärliche Gregarinen. In diesem Jahre waren die Heuschrecken ganz gesund und es scheint mir sehr wahrscheinlich, daß die Sterblichkeit 1922 durch G. acridiorum verursacht war. Auch bei St. fuscum von Gruben (Turtmanntal) habe ich diese Gregarine nicht gefunden, wohl aber im Bauch von Stenobothrus parallelus Zett[2]), bis 3 Larven von Sarcophagidae, die nacht Prof. Bezzi sehr wahrscheinlich zur Gattung Blaesoxipha gehören. Die infizierte Heuschrecke konnte nicht mehr schnell springen. Bei einem Exemplar von St. parallelus habe ich im Bauch auch einen Gordius gefunden.

4) Ueber einige Leishmaniaähnliche Körperchen. Bei einer Frau, die lange Zeit in Rußland gelebt hatte und stark an Konjunktivitis litt, habe ich in Ausstrichpräparaten birnförmige Körper-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922. S. 346.
2) Nach freundlicher Mitteilung von Prof. Bedot (Genf).

chen von 4—6—8×2—3—3,5 μ mit Nukleus und Blepharoplast gefunden. Unglücklicherweise konnte ich die Kranke nicht nochmals untersuchen.

5) Untersuchungen über Hirudineen. Trocheta subviridis Dut. var. brunnea findet sich von Zeit zu Zeit im Trinkwasser von Lausanne, und zwar kann sie in Wasserbehältern jahrelang leben, wenn man ihnen lebende Erdwürmer zu fressen gibt. Mit dem hinteren Saugnapf packt und mit dem vorderen saugt sie die Würmer. Mit Fleischstücken, die sehr gut sind für die Ernährung von Aulastoma gulo, konnte ich diese Art nicht ernähren. Hirudo medicinalis. L. findet sich noch frei in der Schweiz. So habe ich sie von kleinen Seen in der Nähe von Semsales (Freiburg) und von Sitten (Wallis) bekommen. Ich konnte diese Art dafür gewinnen, definibriertes Hammelblut zu saugen. Der Geruchsinn dieser Art ist sehr entwickelt. Setzte ich defibriniertes Hammelblut in einen Behälter, blieb aber das Wasser in keiner Verbindung mit diesem, so bewegten sich die Blutegel sehr schnell im Wasser und kriechen dann sehr rasch bis an den Behälter und saugen das Blut.

6) Brutplätze von Gordiaceen auf den Alpen. Die Gordiaceen sind sehr verbreitet in den Alpen und man findet sie bis zu 2000 Meter. In den Kt. Waadt und Wallis ziehen sie die Wasserbecken den Bächen und Seen vor. Es ist interessant zu bemerken, daß, wenn man jahrelang diese Wasserbecken untersucht, so findet man, daß die Gordiaceen immer nur in denselben Becken leben, dagegen aber immer in den anderen fehlen. Sehr oft habe ich in solchen Wasserbecken alle Würmer gesammelt, aber das nächste Jahr waren sie nochmals sehr zahlreich da. In einem Falle, wo ein infiziertes Wasserbecken zerstört worden war, habe ich Gordiaceen nicht mehr gefunden und doch existierten in der Nähe noch zwei ähnliche Wasserbecken. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß für diese Lokalisation der Gordiaceen nicht nur die Anwesenheit von speziellen Wirten, sondern auch die Charaktere des Wassers und der Wasserflora eine Rolle spielen. In den Wasserbehältern des Laboratoriums leben die Gordiaceen nur einige Monate, und nur einmal konnte ich die Entwicklung des Embryos bei einer Ephemeralarve bemerken. Auf den Alpen sind die Gordiaceen speziell in den Monaten Juli, August und September verbreitet, aber man findet auch noch verschiedene Exemplare im Juni und Oktober.

7) Widerstandsfähigkeit und Zerstörung einiger Parasiten. Exemplare von Dermanyssus gallinae, die auf Hühnern gesammelt worden waren, in Glasbehälter gesetzt bei 18—20° und ohne Nahrung gehalten, sind nach 11 Tagen gestorben. In Cuprex gesetzt, sterben sie in 1 Min. 1914[1]) hatte ich einige Experimente über die Widerstandsfähigkeit der Helmintheneier mit verschiedenen Substanzen gemacht und bemerkte, daß selbst in Lösungen von H_2SO_4 50proz. einige Eier von Asc. lumbricoides und Trich. trichiurus einen Embryo entwickeln konnten, und so auch in Lösungen von 50 Proz. von HCl, HNO_3, Essigsäure und Formalin. Yoshida[2]), der das ähnliche Experiment gemacht hatte, konnte eine solche Entwicklung nicht bemerken. Er glaubt, daß die Verschiedenheit der Resultate wahrscheinlich den verschiedenen Temperaturen zuzuschreiben

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. S. 52.
2) Transact. of the jap. path. Soc. Vol. 13. 1923.

ist. In der Tat hat Yoshida seine Eier auf eine Temperatur von 26—30° gesetzt und ich auf eine solche von 18—20°. Es ist auch zu beachten, daß man die Eier in eine nicht zu warme H_2SO_4-Lösung setzen muß. In der Tat, Lösungen von 40—50 Proz. zeigen eine Temperatur von 85—86° [1]), also genügend, um die Eier zu zerstören.

d) Parasitologische Technik.

1) Zur Diagnostik von Mic. audouini. Dieser Pilz ist sehr oft schwer auf den Haaren in der Nähe der Verletzung zu finden. Aber wenn man mit einer binokularen Lupe die Verletzung selbst untersucht, bemerkt man Schuppen, die sehr kleine Haarstücke einbetten. Wenn man mit einer Zange solche Schuppen abreißt und in KOH setzt, dann findet man sehr viele typische Pilze. Diese Methode hat mir erlaubt, in einem Streitfall zwischen Aerzten die Sache zu entscheiden.

2) Zur Diagnostik der Gattung der Coccidien. Um zu wissen, ob man es mit Eimeria oder Isospora zu tun hat, so ist die einfachste Methode folgende: Man tut etwas Sand in eine Petri-Schale, bedeckt mit einem Stück feuchten Fließpapiers und setzt auf das Fließpapier das Material mit Coccidien, und anstatt die Schale zu schließen, bedeckt man sie mit einer Glocke. In einigen Tagen zeigen die Sporokysten die Entwicklung der Sporoblasten.

3) Zur Färbung von Achorion Schoenleini. Man zerreibt in sehr wenig Wasser die Favuskrusten und macht Anstriche, trocknet an der Luft, fixiert an der Flamme und färbt mit 1 Tropfen Fuchsin — 3 Tropfen Wasser, mit Thymolblau oder mit Thionin 50, Karbol 1, Alkohol 10, Wasser 90. Mit Wasser gründlich waschen, trocknen und in Kanadabalsam legen.

4) Zur Anstrichfärbung. Die Färbung von Blut, Milch, Eiter und Organsäften, auch mit verdünntem Karbolfuchsin, gibt sehr oft sehr schlechte Resultate für Bakterienuntersuchungen. In der Tat, sie färbt zu stark und die Bakterien werden maskiert. Wenn man in solchen Ausstrichen Bakterien sucht, die sich mit Gram färben, muß man natürlich diese Färbung anwenden. Aber wenn die Bakterien mit Gram nicht färbbar sind, finde ich, daß die beste Methode Giemsa ist, 1:20 für 6—10 Std. So z. B. ist diese Färbung vorzüglich, um B. pseudotuberculosis rodentium in Leberknötchen von Meerschweinchen zu suchen, wo die anderen Färbungen sehr schlechte Resultate geben.

5) Aufsuchen von Ciliaten und Flagellaten mit der Methode Rivolta-Burri. Mit Kollargol 1:20 und speziell mit Cyanochinlösung, kann man sehr oft schöne Präparate speziell von Ciliaten des Wassers und auch von Amöben anfertigen.

6) Die Methode von Casares-Gil. Diese vorzügliche Methode für Geißelfärbung hat mir sehr gute Resultate auch zur Färbung von Ciliaten und für die Geißeln von Wasserspirillen gegeben. Lösungen, 5 Jahre alt, geben noch gute Resultate. Die Firma Ciba in Basel präpariert jetzt die Lösung von Casares-Gil.

7) Sporenfärbung nach Bozzelli. Bozzelli hatte eine Färbung, um M. tuberculosis von säurefesten Bazillen zu differenzieren, empfohlen. Mein Schüler Hartmann [2]) hat demonstriert, daß diese Methode keinen Wert hat. Aber die Lösungen von Bozzelli sind sehr geeignet, um Sporen zu färben. Für diese Färbung präpariert man:

1) Schweiz. Arch. f. Tierheilk. 1908. Nr. 1.
2) Etudes sur les Actinomycètes. Thèse de Lausanne. 1916.

Lösung Nr. 1:	H_2SO_4 1 Proz.	
„ „ 2:	Methylenblau	1,50
	Na_4AsO_4	5
	Alkohol	12
	Dest. Wasser	100
„ „ 3:	Neutralrot	0,50
	Dest. Wasser	100

Anstriche auf der Flamme fixiert, für 1—2 Min. mit Lösung 1 behandelt, gut gewaschen mit Lösung 2, warm gefärbt, etwa 6mal in 10 Min. zur Entwicklung von Dämpfen, waschen und färben 1 Min. mit Lösung 3. Waschen, trocknen und mit Immersion zu untersuchen. Sporen blau und Bazillen rötlich.

8) Das Trockenkomplement von Gans. Mit Hilfe der Straubschen Trocknungsmethode, das Pharmazeutische Institut L. W. Gans in Oberursel hat ein Komplement präpariert, das sehr leicht zu konservieren ist. Fräulein Narbel war so gut, dieses Komplement mit frischem Komplement in der WaR. zu vergleichen. Die Resultate waren vorzüglich: Keine Verschiedenheit zwischen den zwei Komplementen, auch nach 8 Monaten. Es ist zu empfehlen, die Lösungen frisch zu bereiten.

9) Ueber die Kultur von Leishmania tropica. Ich konnte L. tropica nicht nur auf dem Boden NNN mit $1/3$ defibriniertem Kaninchenblut, sondern auch auf NNN mit defibriniertem Menschenblut und auf frisch präpariertem Agar von Levinthal züchten. Aber auf diesen Boden konnte ich nur 3 Passagen machen.

10) Ein Taschenmikroskop. Im Jahre 1921[1]) hatte ich die Beschreibung eines Mikroskops für Arbeiten speziell auf den Bergen, gegeben. Jetzt hat die Firma Hensold in Wetzlar das Problem ganz gelöst. Sein Protami, das auch Oelimmersion trägt und nur 900 g wiegt, ist das ideale Mikroskop für Reisende. Es hat mich auf meinen Touren in den Hochalpen begleitet und mir sehr gute Resultate gegeben.

Ueber die Giftwirkung der Bisse von Tausendfüssen.

Von **Albrecht Hase**, Berlin-Dahlem.

Mit 4 Abbildungen im Text.

Bereits 1920 und 1921 hatte ich mich mit der Frage der Giftigkeit der einheimischen Tausendfüße für den Menschen etwas befaßt. Nach dem Volksglauben (in vielen Gegenden) sind die „Tausendfüße" „giftige Tiere"[2]). Die Ansicht, es handele sich um giftige Tiere, besteht zu Recht, wobei natürlich daran festzuhalten ist, daß der Begriff „giftig" eben nur bedingte Gültigkeit hat. Andere Aufgaben drängten mich zunächst von der oben aufgeworfenen Frage ab. Als ich im Frühjahr 1925 im Rahmen weit angelegter Versuche über giftige Gliedertiere darauf zurückkam, und zunächst die Literatur zu Rate zog, ergab sich leider, daß außer mehr allgemeinen Angaben nicht viel zu finden

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 352.

2) Je nach den verschiedenen Landstrichen heißen sie nicht nur „Tausend"- oder „Hundertfüße", man nennt sie auch „Erdläufer", „Steinpicker", „Steinkriecher", „Steinläufer", „Steinasseln" oder „Asseln" schlicht hin.

war, was ich für meine Zwecke verwenden konnte. — Anatomisch-morphologische Beschreibungen der Giftdrüsen und Giftwaffen der Tausendfüße liegen besonders von Plateau (1876), Mac Leod (1878) und vor allem von Duboscq (1895, 1898, 1898) vor. Die neueren Bearbeiter Faust (1906 u. 1919), Fredericq (1924), Martini (1923) und Verhoeff (1902—1925) schließen sich den älteren Angaben meist eng an.

Ueber die Giftigkeit der Bisse von Tausendfüßlern widersprechen sich die Berichte teilweise. Briot (1904) sagt a. a. O. S. 476: „elle (Scolopendra) fait des morsures très douloureuses chez l'homme avec oedème de la partie atteinte".

Faust (1906) schreibt a. a. O. S. 191: „Die chemische Natur des Sekretes der Giftdrüse und der wirksame Bestandteil dieses Sekretes ist unbekannt." „Beim Menschen verursacht der Biß einheimischer Scolopendren nur lokale Erscheinungen. Es bildet sich meistens nur eine kleine Quaddel an der Bißstelle, doch soll im Sommer der Biß oft Entzündungen von erysipelartigem Charakter verursachen, so daß die zunächst an der Bißstelle auftretende Schwellung und Rötung sich über die ganze betroffene Extremität verbreiten kann. Allgemeine Erscheinungen treten nie auf (Duboscq)" [1]).

Ebenso äußert sich Heymons (1915) a. a. O. S. 33: „Dem Menschen können sie (Lithobius) nichts tun, es sei denn, daß sie gerade eine weiche Hautstelle erwischen, wo ihr Biß ein vorübergehendes Brennen hervorruft, aber weiter keine Folgen hat", und S. 34: Scolopendridae: „Sein Biß ist für den Menschen nicht nur ziemlich schmerzhaft, sondern hat mitunter auch eine erhebliche Schwellung des verletzten Körperteiles zur Folge." Calmette (1905), Martini (1923), Eysell (1924) bringen im wesentlichen die gleichen Angaben. Eingehender wird ein Fall von schwerer Schädigung am Unterschenkel durch einen Biß von Scolopendra heros durch Baley de Castro (1921) beschrieben. Aeltere Angaben über schwerere Schädigungen finden sich bei Wood (1866), der kurz einen Todesfall bei einem 4jährigen Kinde erwähnt, und bei Sebastiany (1870). Letzterer schildert 2 Fälle von Scolopendra morsitans-Bissen, und zwar bei einem 8jährigen Kinde und bei einem 49jährigen Mann. Neben lokalen Schmerzen traten Erbrechen und Kopfschmerzen als allgemeine Erscheinungen auf. Die Bißstelle rötete sich, dann wurde sie im Zentrum schwarz und an der betreffenden Stelle entstand eine „inflammation des vaisseaux lymphatiques" (a. a. O. S. 363).

Allgemeiner sind auch die diesbezüglichen Ausführungen von Hirst (1920) und von Castellani und Chalmers (1919). Bei letzteren werden Todesfälle von kleinen Kindern nach Bissen der tropischen Formen erwähnt, während bei Erwachsenen ein gutartiger Ablauf vorausgesagt wird. Hinsichtlich der allgemeinen Giftwirkung heißt es bei letzteren (a. a. O. S. 218): „Effects of the venom. The poison causes local and general symptoms. At first there is itching, but this is quickly followed by intense pain, which extends all over the limb. A red spot appears at the site of the bite, which enlarges and becomes black in the centre, and sometimes there are lymphangitis and lymphadenitis. The general symptoms are great mental anxiety, vomiting, irregular pulse, dizziness, and headache." Bei diesen Angaben muß aber berücksichtigt werden, daß sie sich in erster Linie auf troipsche größere Arten beziehen. — Mit der Frage der chemischen Natur des Tausendfußgiftes beschäftigten sich in neuerer Neit Iwano (1917) und Cornwall (1915—16). Beide machten auch Tierversuche, doch können, was bei der Schwierigkeit der Untersuchungen nicht verwunderlich ist, diese ersten Arbeiten noch nicht als erschöpfend betrachtet werden. — Die genauesten Angaben über die Wirkung von Scolopendra morsitans L.-Bissen, und zwar auf Grund eigener Erfahrungen, bringt Schnee (1911), auf dessen Arbeit hingewiesen sei, besonders zum Vergleich mit meinen Ausführungen.

Verhoeff (1902—1925), einer der besten Kenner der Myriapoden, stützt sich in dieser Hinsicht wohl auch auf ältere Angaben, wenigstens spricht er nicht ausdrücklich von eigenen Versuchen. A. a. O. S. 35 schreibt er: „Die Wirkung des Giftdrüsensaftes ist eine lähmende bei den den Chilopoden zur Beute fallenden Gliedertieren und Würmern. Für den Menschen kommt in erster Linie der Umstand in Betracht, ob die einzelne Art die genügende Größe und Kraft besitzt, um unsere Haut mit ihren Giftklauen zu durchbohren. Demgemäß können uns nur die größeren Scolopendriden gefährlich werden. Daß deren Biß heftige Anschwellungen, selbst eines ganzen Armes zur Folge haben kann, ist gewiß. Ob die größten Arten

1) Faust führt Duboscq fast wörtlich an.

auch den Tod eines Menschen verursachen können, steht noch nicht genügend fest. Die Giftflüssigkeit ist eine klare Säure"; und S. 310: „Daß alle Chilopoden, deren Kopfgröße nicht unter einen gewissen Bruchteil des Gesamtkörpers sinkt, sich mittels ihrer mit Giftdrüsen bewehrten Kieferfüße zu verteidigen bestrebt sind, liegt auf der Hand. Die größeren Formen der Scolopendromorpha sind selbst dem Menschen gegenüber gefährlich und gefürchtet, und ein bekannter Afrikareisender mußte sogar durch einen Scolopendridenbiß eine zeitweise Lähmung erfahren." Ein Gleiches tut Fredericq (1925), der das Bekannte kurz zusammenfaßt. Es hat den Anschein, als ob alle Angaben auf einen entsprechenden kurzen Abschnitt bei Dusboscq (1898) zurückgingen, bei dem es a. a. O. S. 551 heißt: „L'homme est très sensible au venin; mais les effects varient selon l'époque. En hiver, la morsure d'une Scolopendre provoque tout au plus une petite élevure ortiée disparue une heure après. Quand vient le printemps et le temps chaud, que les Scolopendres ont recouvré toute leur activité, une simple morsure provoque une inflammation, qui progresse pendant trente-six, quarante-huit heures ou même trois jours et s'étend loin de l'endroit piqué. Une morsure à un doigt cause l'enflure de toute la main et de la moitié de l'avant-bras. Il n'y a ni fièvre, ni aucune troubles généraux."

Mir war mit diesen Darlegungen, hinsichtlich der Wirkung des Giftes der heimischen Tausendfuß-Arten auf den Menschen nicht viel gedient. Ich beschloß bei Gelegenheit eigene Beobachtungen anzustellen. Zu den Versuchen waren mir die kleineren Formen, wie Lithobius und Scolopendra gerade recht. Im Oktober 1925 erbeutete ich bei Navacerrada in dem Guadarramagebirge (Mittelspanien) eine ziemliche Anzahl von Scolopendra cingulata Latz. und Lithobius insignis Meig. und im November 1925 bei Torremolinos (südlich von Malaga) eine Anzahl von Scolopendra oraniensis lusitana Verh.[1]). Dieses Material kam mir zu meinen beabsichtigten Versuchen sehr gelegen.

Nachfolgend gebe ich eine kurze Schilderung der Bißfolgen dieser Arten. Alle Beobachtungen einzeln anzuführen, hat keinen Zweck, da sich wesentliches immer wiederholt. Ich greife deshalb 3 Fälle heraus:

Beim	Fall	1	biß	1	Tier	1	Versuchsperson	(♂)	1mal	
„	„	2	„	1	„	1	„	(♂)	2 „	an gleicher Stelle
„	„	3	„	1	„	2	Versuchspersonen	(♂ u ♀)	2 „	an verschied. Stellen

Die Methodik der Untersuchung von Hauterscheinungen nach Insektenstichen und Insektenbissen ist von mir eigens ausgearbeitet worden. An dieser Stelle sie darzulegen, ist unmöglich; es sei auf die diesbezügliche Arbeit (Hase 1926)[2]) verwiesen. Eine kurze Andeutung gab ich schon früher in meiner Arbeit über die Stiche der Wasserwanze Notonecta (Hase, 1924, S. 149). (Fig. 1 u. 2 siehe S. 328.)

Fall 1 [Fig. 1 und Fig. 2 (F. 1)]. Lithobius insignis Meig. von 2,8 cm Länge und 0,4 cm Breite. Gewicht konserviert: 204,6 mg. Einbiß einmal am linken Unterarm Innenseite. Zimmertemperatur 17,0°.

Sofort beim Einbiß ist ein heftiger, brennender Schmerz an der betreffenden Hautstelle zu spüren. Aus den beiden Bißkanälen treten kleine Bluttröpfchen aus, die im weiteren Verlauf rasch eintrocknen. — Nach 2 Min. beginnt eine Quaddel (Qu) sichtbar zu werden, und um die Bißstelle entwickelt sich ein roter hyperämischer Hof (Erythema) [vgl. Fig. 1 u. Fig. 2 (F. 1)] [3]). In Fig. 2 ist das Wachstum der

1) Für die rasche Bestimmung der Arten bin ich dem Museum für Naturkunde zu Berlin zu Dank verpflichtet.

2) Hase, Albrecht, Beiträge zur experimentellen Parasitologie 1. Ueber Verfahren zur Untersuchung von Quaddeln und anderen Erscheinungen nach Insektenstichen. (Zeitschr. f. angew. Entomologie. Bd. 12. Berlin 1926 [im Druck)].

3) Aus technischen Gründen mußte die Beigabe von farbigen Abbildungen unterbleiben. Ich habe die Farbbilder in Grauton umgezeichnet, da sie so noch am besten die Verhältnisse darstellen. Alle Abbildungen sind in natürlicher Größe.

Quaddel von Fall 1 und Fall 2 unter Angabe der jeweiligen Zeiten nebeneinander gestellt worden. — Nach **5** Min. ist die Quaddel bereits recht ansehnlich geworden. Der Schmerz ist ausgesprochen brennend und frei von Juckgefühl. — Nach **10** Min.: Die Quaddel wächst rasch weiter und auch der rote Hof hat sich vergrößert, doch ist die Umgrenzung unscharf und vielfach gezackt. Die Temperatur (mit Quecksilberspezialthermometer gemessen) an der gebissenen Hautstelle beträgt 33,0°; an einer 6 cm davon entfernten normalen Hautstelle nur 31,4°; d. h. die Bißstelle ist um **1,6°** wärmer. — Nach 28 Min.: Das brennende Gefühl ist völlig geschwunden. Die Quaddel wächst aber weiter. — Nach **38** Min.: Schmerzlos; die Quaddel hat ihre größte Ausdehnung erlangt. Die Fig. 1 gibt ein Uebersichtsbild der Harnreaktion auf dem Höhepunkt der Entwicklung.

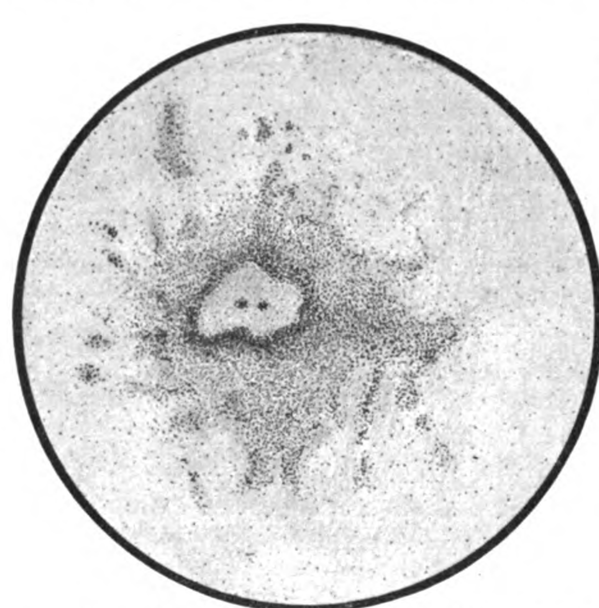


Fig. 1. Fall 1. Bißwirkung von Lithobius insignis. Höhepunkt der Hautreaktion nach 38 Min. Nat. Gr.

Um die Quaddel hat sich ein dunkelroter Rand gebildet. Sie selbst ist gelbrot gefärbt und von ihr heben sich die beiden Einstichstellen der Kieferfüße (welche die Mündungen der Giftdrüsen tragen) sehr deutlich als blutrote, hämorrhagische Punkte ab.

Gleiche Beobachtungen machte Calmette (1905). Der die Quaddel umsäumende dunkelrote Rand geht direkt in einen zackig auslaufenden roten Hof (hyperämischer Bezirk) über. Die Rötung des letzteren ist aber keine gleichmäßige. Es wechseln lebhafter und matter getönte Stellen unregelmäßig miteinander ab.

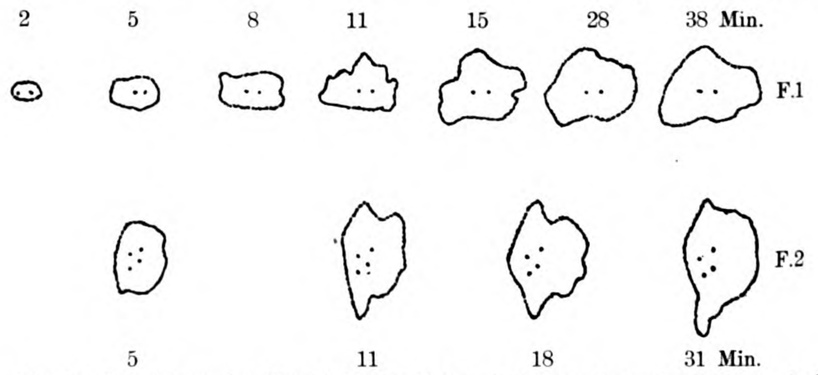


Fig. 2. Wachstum der Quaddel bei Fall 1 = Lithobius insignis, Fall 2 = Scolopendra cingulata, innerhalb der angegebenen Zeiten. Natürliche Größe.

(Durch verschieden starke und dichte Punktierung war ich bemüht diese Verhältnisse auszudrücken.) Eine scharfe Grenze des hyperämischen Hofes nach der unbeteiligten Haut hin ist nicht zu ziehen. „Verspritzte" rote Flecken machen eine genaue Grenzsetzung unmöglich. Der Durchmesser des gesamten Reaktionsbezirkes beträgt etwa 5,0 zu 5,5 cm. Die durch den Biß des Lithobius in Mitleidenschaft gezogene Hautfläche ist also verhältnismäßig groß, ein Beweis für die ziemlich heftige Wirkung des Lithobiusgiftes auch für den Menschen.

Fall 2 [Fig. 2 (F. 2) und Fig. 3]. Scolopendra cingulata Latz. von 4,5 cm Länge und 0,5 cm Breite; Gewicht konserviert 275 mg. Einbiß zweimal, unmittelbar hintereinander und nebeneinander an der Innenseite des linken Unterarmes.

Sofort nach den beiden Einbissen ist ein sehr heftiger, ausgeprochen brennender Schmerz zu spüren. Die 4 Bißkanäle sind deutlich sichtbar und aus allen treten kleine, bald eintrocknende Bluttröpfchen aus. — Nach **3** Min. beginnt eine Quaddel sichtbar zu werden und der unmittelbar nach dem Biß entstandene rote Hof vergrößert sich. — Nach **5** Min. ist die Quaddel schon recht ansehnlich.

Vergleicht man die Größe dieser Quaddel (Fig. 2, F. 2) mit der Größe der Quaddel des ersten Falles auf einmaligen Einbiß hin (Fig. 2, F. 1), innerhalb der gleichen Zeitabstände, so ergibt sich, daß die Quaddel des Falles 2 wesentlich größer ist. Das Erwartete trat ein, der doppelte Einbiß an gleicher Stelle hat eine kräftigere Hautreaktion zur Folge gehabt. — Das Schmerzgefühl hält in unverminderter Stärke an. — Nach **11** Min. ist die Quaddel noch stark gewachsen. Das Brennen — nicht Jucken — ist noch etwas heftiger geworden. Der rote Hof um die Quaddel hat einen Durchmesser von etwa 7 cm erreicht, wobei aber die Begrenzung ebenfalls keine deutliche ist. Eine Zone verstreuter roter Flecken bildet genau wie bei Fall 1 den Uebergang zu der nicht in Mitleidenschaft gezogenen Haut. — Nach **18** Min.: Die Quaddel wächst noch, besonders in der Weise, daß zunächst wurzelförmige Ausläufer vorgetrieben werden, die dann rasch am Grunde verschmelzen. — Nach **25** Min.: Das Schmerzgefühl — es war ein dauerndes Brennen — läßt nach. Die Quaddel wächst langsamer als bisher weiter. Der rote, hyperämische Hof ist in gleicher Ausdehnung wie bisher vorhanden. — Nach **31** Min.: Die Quaddel hat ihren Höhepunkt der Entwicklung erreicht (Fig. 3 a und Fig. 2, F. 2). An den Rändern sieht man die ersten Anzeichen der beginnenden Einschmelzung. Das Schmerzgefühl hat bedeutend nachgelassen, es wird aber wieder lebhafter, wenn man die Bißstelle berührt, d. h. mechanisch reizt. Die Einbißstellen sind deutlich hämorrhagisch, und es finden sich hämorrhagische Flecke, natürlich von geringer Größe, über die Fläche der Quaddel verstreut. Diese erscheint bei Fall 2 also nicht so gleichmäßig rotgelb getönt, wie bei Fall 1 und wie bei Fall 3, um es gleich hier zu bemerken. — Da bei diesem 2maligen Einbiß doch beträchtlich mehr Gift einverleibt wurde, so führe ich die ausgedehntere Hämorrhagie darauf zurück. Ferner darf nicht vergessen werden, daß wir es bei diesem Falle 2 mit einem Scolopenderbiß zu tun hatten, beim vorigen aber mit einem Lithobiusbiß. Wenn auch beide sehr nah verwandte Formen darstellen, so dürfte ein gewisser Unterschied hinsichtlich ihrer „Giftigkeit" doch bestehen. Die Fig. 3 a gibt ein Uebersichtsbild der gesamten Hautreaktion, wie sie nach Verlauf von 30 Min. etwa bis zur 40. Min. (vom Augenblick des Einbisses ab gerechnet) aussah. Der hyperämische Hof zeigt dieselben Erscheinungen wie schon beim ersten Fall beschrieben.

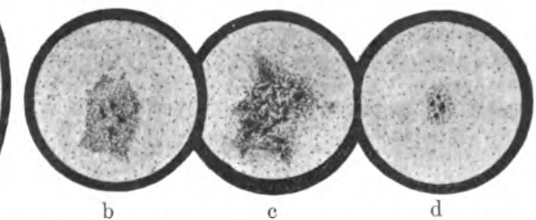


Fig. 3. Fall 2. Bißwirkung von Scolopendra cingulata. a Höhepunkt der Hautreaktion nach 38 Min., b, c, d sekundäre Bißfolgen desselben Falles. Nähere Erklärung im Text. Natürliche Größe.

Was bisher beobachtet wurde, waren im wesentlichen primäre Bißfolgen. Was sich nun in der Haut an der Bißstelle abspielt, ist als sekundäre Folge anzusprechen.

Nach **60** Min.: Die Quaddel ist völlig verschwommen, sie zeigt nichts mehr von ihrer eigentümlichen Ausbildung. Auch der rote Hof ist im Zurückgehen. Ein Schmerzgefühl ist nicht mehr vorhanden. — Nach **3** Std. (Fig. 3 b): Der ursprüngliche rote Hof ist verschwunden. Es bildete sich aber, nicht ganz im Ausmaß der Quaddel im letzten Stadium, ein hämorrhagisch durchsetzter und daher blau-rot-violett gefärbter Fleck um die 4 Einbißstellen heraus. Nach Aufhellung der Haut mit Hilfe

von Glyzerin und Verwendung von entsprechender Vergrößerung sind in der Tiefe der Haut deutlich die Blutergüsse zu sehen. Brennen oder Jucken ist nicht mehr zu spüren. — Nach **24** Std. (Fig. 3 c): Die Bißstelle ist kräftig blaurot-violett verfärbt, so daß die 4 Bißkanäle nur undeutlich hervortreten. Die ganze Erscheinung läßt klar erkennen, daß zahlreiche Blutergüsse noch nachträglich erfolgt sind. Der Durchmesser dieses ausgesprochen hämorrhagischen Herdes ist etwa 1 cm. Von der Umgebung ist er, trotz der zackigen Umrandung, ziemlich scharf abgesetzt. Schmerzen auch bei mechanischer Beanspruchung treten nicht mehr auf. — Nach **48** Std. (Fig. 3 d): Die Hämorrhagie ist verschwunden. Die Resorption ist beendet und

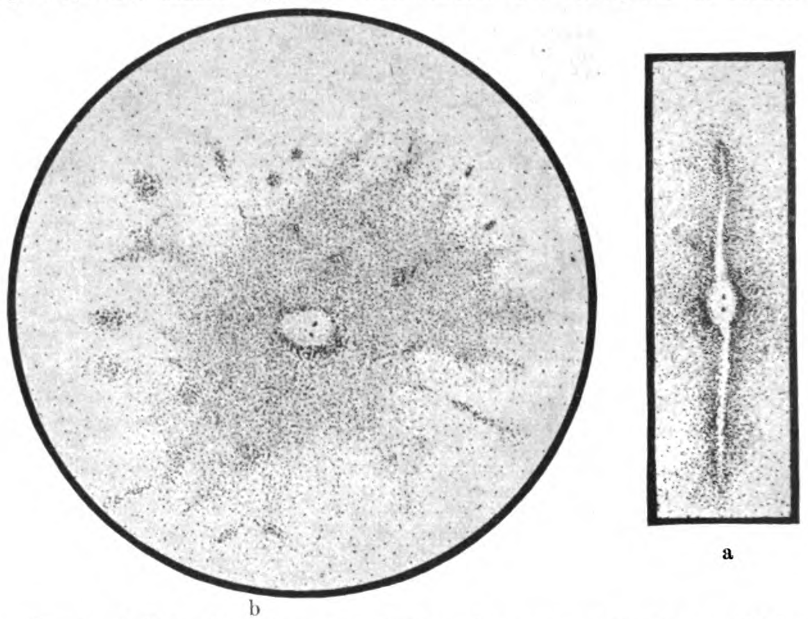


Fig. 4. Fall 3. Bißwirkung von Scolopendra oraniensis lusitana. a Höhepunkt rer Hautreaktion bei Versuchsperson A. H. nach 34 Min., b Höhepunkt der Hautdeaktion bei Versuchsperson E. H. nach 31 Min. Natürliche Größe.

damit haben auch die sekundären Bißerscheinungen den Höhepunkt ihrer Entwicklung überschritten. Die 4 Einbißstellen treten wieder deutlich hervor, jetzt als braunrote Pünktchen. Letztere Farbe verursacht kleine Blutborken. Nur ein zarter roter Hof zeigt die Lage der Bisse an. Weder Jucken noch Brennen trat wieder auf, und im weiteren Verlauf verschwanden die letzten Merkmale der Scolopenderbisse, welche 48 Stunden früher recht beträchtliche Hautreaktionen verursacht hatten.

Fall 3 (Fig. 4 a und b). Scolopendra oraniensis lusitana Verh. Länge = 3,8 cm, Breite = 0,3 cm, Gewicht konserviert 162 mg.

Erster Einbiß bei Versuchperson A. H. ♂ an der Innenseite des linken Unterarms. — Zweiter Einbiß bei Versuchsperson E. H. ♀ an der Innenseite des rechten Unterarmes 25 Min. nach dem ersten Biß.

Die innerhalb der gleichen oder fast gleichen Zeitabstände (vom Augenblick des Einbisses jeweils gerechnet) beobachtbaren Hautreaktionen bei den beiden Versuchspersonen stelle ich gegenüber. Es wird so das Wesentliche mehr zur Geltung gebracht, als wenn ich nacheinander den Ablauf der Reaktionen schildere. Auch in diesem Fall konnten bei den beiden Versuchspersonen primäre und sekundäre Bißfolgen festgestellt werden.

Primäre Bißfolgen. Nach **1** Min. Versuchsperson A. H.: sofortiger heftig brennender Schmerz. — Nach **1** Min. Versuchsperson E. H.: ebenfalls sofortiger heftiger Schmerz, der teils brennend, teils äußerst unangenehm „prickelnd" empfunden wird. — Nach **2** Min. Versuchsperson A. H.: die Bißkanäle in der Tiefe deutlich mit Blut gefüllt; doch treten die Bluttröpfchen nicht bis an die Hautoberfläche. — Nach **2** Min. Versuchsperson E. H.: Blutaustritt aus den Biß-

kanälen in Form kleiner, schnell eintrocknender Tröpfchen. — Nach 2—3 Min. Versuchsperson A. H. und E. H.: Beginn der Quaddelbildung. — Nach 12 Min. Versuchsperson A. H.: Quaddel bereits 48 qmm groß. Deutlicher roter Hof. — Nach 13 Min. Versuchsperson E. H.: Quaddel bereits 62 qmm groß. Der rote Hof ist bei dieser Versuchsperson (weiblich!) größer als bei der Versuchsperson A. H., was wohl in der stärkeren Hautempfindlichkeit bei Frauen im allgemeinen seine Erklärung findet[1]. — Nach 20 Min. Versuchsperson A. H.: Das Brennen der Bißstelle hält unvermindert heftig an. — Nach 21 Min.: Versuchsperson E. H.: Das Brennen beginnt etwas nachzulassen. In beiden Fällen ist kein ausgesprochenes Juckgefühl zu spüren. — Nach 34 Min. Versuchsperson A. H.: Die Quaddel hat ihren Höhepunkt erreicht. Sie ist im zentralen Teil verhältnismäßig klein geblieben, zeigt aber zwei wurzelförmige, lange Ausläufer (Fig. 4 a). Man vergleiche die Quaddelentwicklung bei Fall 1 u. 2 (vgl. Fig. 1 u. 3 a)! Die Entwicklung des roten Hofes ist nicht so ausgedehnt wie bei dem vorigen Fall. — Nach 31 Min. Versuchsperson E. H.: Höhepunkt der Quaddelentwicklung. Auch bei dieser Versuchsperson ist die Quaddelentwicklung keine bedeutende, aber der rote Hof ist groß und deutlich (Fig. 4 b).

Nach den angegebenen Zeiten beginnt die Quaddel in beiden Fällen einzuschmelzen. Der Schmerz verschwindet ohne besonderes Juckgefühl.

Sekundäre Bißfolgen. Die bei Fall 2 beschriebenen sekundären Bißfolgen treten auch hier bei beiden Versuchspersonen A. H. und E. H. auf. Es entwickeln sich an den Bißstellen hämorrhagische Herde, die in den nächsten 12 Stunden zur Resorption kommen. Die Bißkanäle sind als feine braunrote Pünktchen noch eine Zeitlang zu sehen. Das wesentliche Ergebnis dieses Doppelfalles ist, daß bei beiden Versuchspersonen die Hautreaktionen gleich ablaufen, und daß diese Gleichheit sich auch auf das Einhalten der Zeitabstände erstreckt.

Fassen wir zum Schluß die Ergebnisse der einzelnen Fälle zusammen: 1) in allen 3 Fällen tritt die sichtbare Quaddelbildung nach 2—3 Min. (vom Augenblick des Einbisses ab gerechnet) ein; 2) der Höhepunkt der Quaddelbildung liegt zwischen der 30. und 40. Min. Die kleine Tabelle läßt das klar erkennen.

Tabelle.

	Fall 1	Fall 2	Fall 3	
	Versuchsperson A. H. ♂	Versuchsperson A. H. ♂	Versuchsperson A. H. ♂	Versuchsperson E. H. ♀
Quaddel wird sichtbar nach	2 Min.	3 Min.	2 Min.	2-3 Min.
Höhepunkt der Quaddelentwicklung	38 „	31 „	34 „	31 „

3) In allen 3 Fällen traten als primäre Bißfolgen auf: sofortiger, sehr heftiger, im wesentlichen brennender Schmerz[2], ohne ausgesprochenes Juckgefühl. Ferner trat aus dem Bißkanal Blut aus. Es entwickelte sich sehr rasch ein hyperämischer Hof um die Bißstelle, und eine deutliche Hämorrhagie. 4) Als sekundäre Bißfolgen war zu verzeichnen: eine intensive Rötung um die Bißstelle, eine ausgebreitetere Hämorrhagie, welche im späteren Verlauf ohne weitere pathologische Erscheinungen zur Resorption gelangt. Schmerzen, Schwellungen oder besonderes Jucken traten in keinem der beobachteten Fälle als sekundäre Bißfolgen auf.

Daraus geht hervor: die Bisse auch der kleineren Tausendfüße

1) Da die Versuchsperson E. H. zum 1. Male den Bissen von Tausendfüßen ausgesetzt war, so spielen vielleicht psychogene Einflüsse bei der Entwicklung der ganzen Reaktion mit herein.

2) Das „Brennen" war, um einen landläufigen Vergleich zu gebrauchen, wie das nach Brennesselberührung, nur entsprechend heftiger.

(Myriapoda), verursachen ziemlich heftige und schnell entstehende Hauterscheinungen, welche aber sehr bald abklingen und ohne weitere ernsthaftere Folgen verschwinden.

Schriftenverzeichnis.

Das Schriftenverzeichnis macht keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Weitere Hinweise finden sich bei Eysell, Martini und Fredericq.

Bachelier, Louis, La scolopendre et sa piqure. Des accidents qu'elle détermine chez l'homme. (Thèse. Nr. 214. Paris 1887.) — Bayley de Castro, A., The poison of the Scolopendridae — being a special reference to the Andaman species. (Indian med. Gaz. Vol. 56. Calcutta 1921.) — Briot, A., Sur le venin de Scolopendres. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 57. Année 1904.) — Calmette, A., Vergiftungen durch tierische Gifte. (In Menses Handb. d. Tropenkrankh. Leipzig 1905. Bd. 1.) — Castellani, A., and Chalmers, A., Manual of tropic Medicine. 3. edit. London 1919. — Cornwall, J. W., Some Centipedes and their venom. (Indian J. med. Res. Vol. 3. Calcutta. 1915—16). — Dimnock, George, On an habit of Scolopendra morsitans. (Psyche. Vol. 3. 1880—82. Cambridge.) — Duboscq, Octave, Sur l'histogénèse du venin de la Scolopendre. (Arch. de zool. expérim. et génér. Sér. III. T. 6. 1898; Notes et revue. Nr. 4.) — Ders., Recherches sur les Chilipodas. (Ibid. Sér. III. T. 6. 1898.) — Ders., Les glandes ventrales et la glande venimeuse de Chetechaelyne vesuviana Newp. (Bull. Soc. Linn. de Normandie. Sér. IV. T. 9. 1895; Caen 1896). — Eysell, Adolf, Die Krankheitsüberträger und Krankheitserreger unter den Arthropoden. (In Mense, Handb. d. Tropenkrankh. Leipzig 1924.) — Faust E. St., Vergiftungen durch tierische Gifte. (Handb. d. inn. Med. Bd. 6. Berlin. Springer. 1919.) — Ders., Die tierischen Gifte. Braunschweig 1906. — Fredericq, Léon, Die Sekretion von Schutz- und Nutzstoffen. (In Winterstein, Handb. d. vergl. Physiol. Bd. 2. Teil 2. Jena 1924.) — Herbst, Curt, Beiträge zur Kenntnis der Chilopoden. (Bibliotheca zool. H. 9. Kassel 1892; Bibliotheca zool. Bd. 3. Stuttgart 1891—93.) — Heymons, Richard, Die Vielfüßler, Insekten und Spinnenkerfe. (Brehms Tierleben. Bd. 2. Leipzig 1915.) — Hirst, S., Species of Arachnida and Myriopoda injurious to Man. (Brit. Museum [Nat. Hist.]. London. Econ. Ser. 1917. Nr. 6.) — Jourdain, S., Le venin des Scolopendres. (Compt. rend. Acad. des Scienc. Paris. T. 113. 1900.) — Iwano, S., Ueber die chemische Natur des Skorpiongiftes. (Kyoto Igaku Zassi. Vol. 14. 1917.) — Koch, C. L., Die Myriapoden. Halle 1863. — Latzel, Robert, Die Myriapoden der österreichisch-ungarischen Monarchie. Bd. 1 Die Chilopoden. Wien 1880. — Mac Leod, Jules, Recherches sur l'appareil venimeux des Myriapodes chilopodes. (Bull. Acad. Roy. des Scienc. d. lettres et d. beaux-arts. Année 47. 2. Sér. III. T. 45. Bruxelles 1878.) — Martini, Erich, Lehrbuch der medizinischen Entomologie. Jena 1923. — Schnee, Sechs an mir selbst beobachtete Scolopendrenbisse und einiges über Skorpionstiche. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 15. 1911.) — Sébastiany, Piqûre de la scolopendre mordente. (Gaz. d. Hôpit. 1870. Nr. 91.) — Soulié, H., Appareil venimeux et venin de la scolopendre. [Thèse] Montpellier 1885. — Verhoeff, K. W. Chilopoda. (In Bronn, Klassen u. Ordn. d. Tiere. Leipzig 1902—1925. Lief. 63—100.) — Wood, H. C., Effect of the bite of the Scolopendra heros. (Americ. Journ. med. Scienc. New ser. 1866.)

Nachdruck verboten.

Studien über das Rous-Sarcoma im Anschluss an die Mitteilung Gyes über die Ursache maligner Tumoren.

[Institut für Tropenmedizin in Leiden. Abt. für Tropenhygiene.]

Von Prof. P. C. Flu, Leiden.

Die Redaktion des Lancets leitete die Mitteilungen von Gye und Barnard „New Research into the origin of cancer“ mit folgenden Worten ein:

„The two communications which follow mark an event in the history of medicine. They form a detailed description of a long and intensive research into the origin of malignant new growths, and they may present a solution of the central problem of cancer“.

Tatsächlich sollten diese Untersuchungen, wenn eine spätere Nachforschung sie bestätigte und die Erklärung der beobachteten Tatsachen sich als richtig zeigte, nicht nur für das Krebsproblem und für die Aetiologie von anderen bösartigen Neubildungen von grundlegender Bedeutung sein, sondern auch eine große Bedeutung erlangen für die Erklärung der Wirkung von filtrierbaren Virusarten und imstande sein, uns einen Einblick in das immer noch dunkle Problem der Virulenz pathogener Mikroorganismen zu gestatten.

Da ich mich während der letzten Jahre im besonderen mit dem Studien von filtrierbaren Virusarten beschäftigt habe, entschloß ich mich, die Untersuchungen Gyes nachzuprüfen und durch Variation seiner Versuche seine Resultate zu kontrollieren.

Bekanntlich ist Gye bei seinen Untersuchungen von dem 1911 von Peyton Rous beschriebenen Hühnersarkome ausgegangen. Dieses Sarkom kann mittels vollkommen zellfreier Filtrate von Tumorextrakt, ja selbst durch Filtrate solcher Extrakte durch Berkefeld-Kerzen auf gesunde Hühner verimpft werden.

Gye injizierte Hühnern in die Brustmuskulatur mit fallenden Dosen eines Chamberland-Filtrates (Kerze No. L2) eines Rous-Sarcoma. Während Hühner, die $^1/_4$ ccm eines derartigen Filtrats erhalten hatten, bereits nach 14 Tagen einen Tumor zeigten, und nach 22 Tagen an diesem starben, gab die Injektion von 0,25 ccm des Filtrats erst am 21. Tage einen Tumor, der erst am 31. Tage das Tier tötete. Nach Injektion von 0,1 und 0,01 ccm des Filtrats zeigten die Tiere keine Erscheinungen.

Die Wiederholung des Versuches gab mit unbedeutenden Variationen immer ein gleiches Resultat.

Gye sagt, daß bei oberflächlicher Betrachtung diese Resultate scheinbar die Meinung, daß das spezifische Agens des Rous-Sarcoma eine chemische Substanz ist, stützen, da eine derartige Uebereinstimmung von Dosis und Effekt nicht charakteristisch für lebende Mikroben ist.

Er stellte weiter neue Kulturen von Rous-Sarcoma her. Ungefähr ein Gramm Tumorgewebe kam in 5 ccm Hartley-Bouillon, der 0,2proz. KCl und 1 ccm frisches Kaninchenserum beigegeben waren. Wurden die Röhrchen 7 Tage lang anaërob gezüchtet bei 37° C, dann war es möglich, mit dem Inhalt der Röhrchen (von ihm „primäre Kulturen von Rous-Sarcoma“ genannt) bei Hühnern nach Einspritzung von 1 ccm der vollkommen klaren Kulturflüssigkeit in die Brustmuskeln Rous-Sarkome zu erzeugen.

Von solchen primären Kulturen ausgehend, wurden nun sekundäre und weitere Subkulturen angelegt, und zwar wurde ein Nährboden von gleicher Zusammensetzung wie derjenige der primären Kulturen mit einem Stücke eines 14 Tage alten Hühnerembryos beschickt und mit einer Oese einer primären Kultur infiziert.

Während primäre Kulturen erst nach 7tägigem Aufenthalt bei 37° C ihre Infektiosität verloren hatten, war es in keinem Fall möglich, mit sekundären und weiteren Passagen bei Hühnern Tumoren zu bekommen.

Man hatte vor Gye diese Tatsachen erklärt durch die Annahme,

daß das Virus des Rous-Sarcoma nicht zu kultivieren und auch nicht überimpfbar sei. Die Infektiosität der primären Kulturen könnte man erklären durch die Annahme, daß ein gewisses Quantum des Agens das Rous-Sarcoma verursacht, aus den Tumorstücken in die Flüssigkeit diffundiert, während der Verlust der Infektiosität der primären Kulturen auf ein Absterben oder eine Virulenzabnahme des Virus zurückzuführen wäre.

Eine Schwierigkeit gibt nur der Umstand, daß das Agens oder Virus des Rous-Sarcoma nicht immer sich als labil zeigt. Man kann z. B. Sarkomgewebe monatelang unter Glyzerin bewahren und doch noch mit solchen Sarkomstückchen mit Erfolg impfen. Man kann Rous-Sarcomagewebe trocknen, das getrocknete Pulver bewahrt alsdann monatelang seine Infektiosität.

Ich selbst konnte zeigen, daß Rous-Sarcomagewebe, während 48 Tagen im Eisschrank aufgehoben, noch infektiös ist. Das Tumorgewebe war nach dem 48tägigen Aufenthalt im Eisschrank in einen homogenen Gewebebrei umgewandelt.

Tabelle I.

Die Infektiosität von im Eisschrank aufgehobenen Tumorstückchen.

Huhn 28 28.–10.–24.	Geimpft in den Brustmuskel	Mit Tumorgewebe von Rous-Sarcoma (Tumorgewebe dieses Huhnes diente für den weiteren Versuch).	† 10. 12. 192
Huhn 31 10. XII.	„	Mit Tumor von Huhn 28.	† 5. 1. 1926.
Huhn 31 a	„	Mit Tumorgewebe von Huhn 28, seit 10. 12. im Eisschrank (8 Tage).	† 7. 1. 1926. Viele Metastasen in Leber und Lungen.
Huhn 31 b		Mit Tumorgewebe von Huhn 28, seit 10. 12. im Eisschrank (27 Tage).	† 17. 1. 1926. Metastasen in Leber und Lungen.
Huhn 31 c	„	Mit Tumorgewebe von Huhn 28. seit 10. 12. im Eisschrank (48 Tage).	† 19. 2. 1926. Metastasen in Leber. Lungen und Nieren.

Bemerkenswert ist, daß die Infektiosität von wässerigen Tumorextrakten auch bei sterilem Aufbewahren im Eisschrank bereits nach 10—14 Tagen aufgehoben ist.

Die Resultate einer Serie von Versuchen nötigten Gye, den Verlust der Infektiosität der primären Kulturen und auch die fehlende Infektiosität sekundärer und folgender Kulturen auf andere Art zu erklären.

Zentrifugierte er primäre Kulturen von Rous-Sarcoma, die in Bouillon, die außer Serum auch noch 0,5proz. Glukose enthielt, angelegt waren, in einer Zentrifuge mit 9000 Touren in der Minute, so gelang es ihm, die Flüssigkeit in 2 Schichten zu scheiden; eine obere Schicht mit geringer und eine untere mit größerer Infektiosität.

Zentrifugierte er in Röhrchen, deren Wände mit einer dünnen Agarschicht bekleidet waren, so zeigte sich die Flüssigkeit oberhalb des Agars (die sich während des Zentrifugierens von den Wänden des Röhrchens loslöste und sich am Boden sammelte) selbst in Dosen von 2 ccm nicht infektiös.

Beim Zentrifugieren in nicht mit Agar bekleideten Röhrchen bildete sich in den Röhrchen regelmäßig ein geringer Bodensatz. Dieser wurde von Gye 2mal mit Ringer-Lösung gewaschen, und nun zeigten sich 0,6 ccm einer Suspension dieses Bodensatzes in 1 ccm Ringer-Lösung als für Hühner nicht infektiös.

Wurden Hühner intramuskulär injiziert mit einer Mischung von 0,4 ccm von der in 0,6 ccm unwirksamer Suspension und 1 ccm der Flüssigkeit aus den mit Agar bekleideten Röhrchen (in der Menge von 2 ccm war diese Flüssigkeit nicht infektiös), so entwickelte sich bei den Hühnern ein Sarkom.

Gye erklärt dieses Resultat folgendermaßen: in einer primären Kultur von Rous-Sarcoma gibt es 2 Substanzen, eine korpuskuläre, die man aus den Kulturen zentrifugieren kann, und eine chemische Substanz, die sich nicht ausschleudern läßt. Die chemische Substanz ist anscheinend sehr labil.

Jede dieser Substanzen ist für sich unwirksam, aber zusammen injiziert sind sie imstande, zur Bildung von Rous-Sarkomen zu führen.

Wenn in den sekundären und späteren Kulturen nur die korpuskuläre Substanz, die allem Anschein nach ein Virus ist, sich vermehrt, so ist es einleuchtend, warum solche Kulturen nicht zur Tumorbildung führen können. Es fehlt ihnen die chemische Substanz, der spezifische Faktor. Wenn das wirklich so ist, so muß es gelingen, einen Tumor zu bekommen, wenn eine gewisse Menge solcher Kulturen mit einem Quantum der chemischen Substanz (dem spezifischen Faktor Gyes) injiziert wird.

Die chemische Substanz bereitet Gye, ausgehend von einer Beobachtung von Rous, daß Filtrate von Rous-Sarkomen durch Behandlung mit Chloroform unwirksam werden, auf bestimmte, später genau zu beschreibende Art; er stellt einen Extrakt aus den Sarkomen her und behandelt diesen mit Chloroform.

Während 2 ccm eines mit Chloroform behandelten Extraktes nicht zu infizieren vermögen, gelingt es, mit einem Gemisch von 0,5 ccm einer nicht infektiösen Passagekultur von Rous-Sarcoma und 0,5 ccm des genannten Extraktes bei Hühnern Sarkome zu erzielen.

Von großer Bedeutung für das Tumorproblem ist die folgende Beobachtung Gyes: er zeigte, daß nicht nur das Rous-Sarcoma, sondern auch ein Mäusesarkom S. 37 durch Berkefeld-Kerzen filtrierbar ist. Zwar gelingt die Filtration nicht mit einer Suspension des Tumors, doch erweist sich eine 24stünd. Kultur des Mäusesarkoms in Hartley-Bouillon, KCl-Kaninchenserum als filtrierbar. 100 Proz. der mit dem Filtrat geimpften Mäuse bekamen in Gyes Versuchen Sarkome.

Gye hielt es für möglich, daß das Virus aus derartigen filtrierbaren Mäusesarkomen identisch ist mit dem des Rous-Sarkoms, und erachtete es für wahrscheinlich, daß sich bei weiteren Versuchen zeigen werde, daß alle bekannten malignen Neubildungen durch ein einheitliches filtrierbares Virus verursacht werden.

Zur Bestätigung seiner Meinung wurde von ihm von verschiedenen experimentell bei Tieren erzeugten Geschwülsten, z. B. von dem schon erwähnten Sarkom 37, von Jensens Rattensarkom, von einem Rattenkarzinom und später auch von menschlichen Sarkomen und Karzinomen in Hartley-Bouillon KCl-Kaninchenserum-Kulturen angelegt.

Vermischte er 0,5 ccm von den 3 Tage alten anaëroben Kulturen solcher Tumoren, die selbst in Dosen von 2 ccm und mehr bei Hühnern

keine Sarkome bildeten, mit 0,5 ccm von mit Chloroform behandeltem Extrakte aus Rous-Sarcoma, so entwickelten sich bei den Tieren typische Rous-Sarkome.

Gye zieht aus seinen Untersuchungen folgende Schlüsse:

Es ist gezeigt worden, daß das Rous-Sarcoma No. 1 durch ein Virus verursacht wird; daß man das Virus züchten kann; daß das Mäusesarkom S. 37 auf Mäuse mittels des vollkommen zellfreien Filtrats von einer anaeroben Kultur dieser Tumoren in Hartley-Bouillon-KCl-Kaninchenserum überimpfbar ist; daß die Rattengeschwülste 9 und das Jensen-Rattensarkom, das Mäusesarkom 63 und ein menschlicher Mammakrebs einen Faktor enthalten, der das Virus des Rous-Sarcoma ersetzen kann.

Der gemeinsame Faktor in allen genannten Tumoren ist so gut wie sicher ein Virus. Das Virus allein ist nicht imstande, einen Tumor zu erzeugen. Für die Tumorbildung beim Rous-Sarkom ist es unerläßlich, daß das Virus aus einem der genannten Tumoren mit einer chemischen Substanz, einem für das Rous-Sarcoma spezifischen Faktor zusammenarbeitet. Der spezifische Faktor wird auf noch unbekannte Art von den Zellen des Rous-Sarkoms gebildet.

Diese Betrachtungen Gyes scheinen wohl sehr revolutionär. Sie teilen diese Eigenschaft mit allen neuen Auffassungen, welche von früheren mit mehr oder weniger Recht als richtig betrachteten Theorien abweichen. Sie sind im Widerspruch mit vielen, was die klassische Mikrobiologie über die Wirkung pathogener Keime gelehrt hat.

Wir haben bis jetzt streng festgehalten an der Spezifität pathogener Mikroorganismen, und nun lehrt uns Gye, daß ein von ihm entdecktes Ultravirus nicht spezifisch ist, ubiquitär in vielen Tumoren vorkommt und seine spezifische Wirkung nur einer Substanz verdankt, die nicht vom Virus selbst, sondern durch die Zellen des Wirtes geliefert wird.

Jedoch all dies darf uns nicht skeptisch gegen Gyes Mitteilungen machen. Würden sie sich als richtig erweisen, so hätten wir einfach unsere Ansichten mit den neuen Befunden in Einklang zu bringen.

Es bedeutet keinen Mangel an Anerkennung der mühsamen Arbeit Gyes, wenn ich jetzt auf einige schwache Stellen in seiner Beweisführung und in seinen Experimenten hinweise. Die weitgehende Bedeutung seiner Schlußfolgerungen nötigen uns zur Objektivität und zur kritischen Betrachtung seiner Arbeit.

An erster Stelle will es mir scheinen, daß auf die Möglichkeit, daß bei der Behandlung der Tumorextrakte mit Chloroform nicht alles Virus getötet wird, nicht genügend geachtet ist.

An zweiter Stelle finde ich es sehr gewagt, aus der scheinbaren Filtrierbarkeit des Mäusesarkoms zu schließen, daß auch dieses Sarkom durch ein Virus verursacht wird, das mit dem des Rous-Sarkoms identisch ist.

Und weiter macht meiner Ansicht nach Gye es sich mit der Tatsache, daß viele pathologische Anatomen, darunter solche mit sehr gutem Namen und anerkannt großer Sachkenntnis, das Rous-Sarcoma nicht als echten typischen Tumor, sondern als einen Entzündungstumor, ein Plasmon, ansehen, wohl etwas zu leicht.

Im Laufe dieser Mitteilung will ich jeden dieser Punkte besonders betrachten und dabei auch die Resultate eigener Untersuchungen über das Thema kundgeben.

Das Material für die gleich zu beschreibenden Experimente bildete ein Rous-Sarkom No. 1, ein Sarkom und ein Karzinom einer Maus. Diese Tumoren verdanke ich Herrn Dr. Bonne, Mitarbeiter des Antonie van Leeuwenhoekhauses in Amsterdam. Ferner experimentierte ich mit einem Adenocarcinoma von der Mamma einer Maus, die mir von Dr. Lignac in Leiden geschenkt wurde, und weiter noch mit verschiedenen Karzinomen der menschlichen Mamma, die mir Prof. Zaayer aus Leiden überlassen hatte.

Die Bereitung der Extrakte aus dem Rous-Sarcoma geschah genau nach Gyes Angaben. 5 g frische, nicht zu alte, so viel als möglich aus gesund scheinenden Teilen des Tumors gewählte Stückchen werden mit einer Schere zerschnitten und nachher mit Sand in einem Mörser zu einer feinen Salbe zerrieben. Diese Salbe wird in 100 ccm 0,9proz. NaCl suspendiert, geschüttelt und durch ein Filter filtriert, das folgendermaßen zusammengesetzt war:

In ein Glasrohr von 3 ccm Diameter, das unten konisch endete, kam eine Schicht von 3 ccm Papierpulpa und hierüber eine Schicht von 10 ccm feinen Sandes (Korngröße $\pm$ 0,5 mm).

Das Rohr wird auf eine Woulffsche Flasche montiert und die Filtration durch Ansaugen der Luft aus der Flasche mit einer Wasserstrahlpumpe ermöglicht. Man muß nämlich immer mit geringem Ueberdruck filtrieren, da sonst die mehr oder weniger schleimige Flüssigkeit kaum durch Sand und Papier zu filtrieren ist.

Das Filtrat ist fast stets eine klare, gelb oder leicht rosa gefärbte, aber bisweilen auch farblose opaleszierende Flüssigkeit. Im Zentrifugat solcher Filtrate sah ich keine Zellen.

Die Infektiosität solcher Filtrate ist ebensowenig wie diejenige der Extrakte konstant. Das würde nur dann der Fall sein können, wenn das Agens oder Virus des Rous-Sarkoms gleichmäßig über den Tumor verteilt wäre und das Virus aus verschiedenen Tumoren oder Tumorstückchen immer gleich virulent wäre.

Da wir von all dem nichts wissen und Tumoren, die sich makroskopisch normal zeigen, bei der mikroskopischen Beobachtung sich jedoch als schleimig degeneriert oder nekrotisch erweisen, und da man auch nicht weiß, ob die Filter immer die gleiche Menge des Virus durchlassen, wird es klar sein, daß ein Sandfiltrat aus einem Rous-Sarcoma aus vielen unbekannten Faktoren zusammengesetzt ist, und daß sicher der Virusgehalt schwanken wird. So zeigte sich mir denn auch, daß der eine Extrakt in der Dosis von 0,1 ccm wirkte, während man von einem anderen oft 0,5 ccm und auch 1,0 ccm nehmen muß, um ein gleiches Resultat zu erlangen.

Es ist klar, daß die infizierende Dosis eines Extraktes abhängen muß von seinem Virusgehalt. Es ist sicher, daß das Virus korpuskulär ist. Es wird demnach von jedem Filter eine gewisse Menge zurückgehalten werden, und je feiner die Poren des Filters sind, um so größer wird diese Menge sein.

Wir sehen denn auch, daß Suspensionen vor der Sandfiltration in geringerer Dosis infizierten als nachher, und daß man von dem gleichen Filtrat nach Filtration durch Chamberland L 2 eine größere Dosis braucht, um ein positives Resultat zu haben. Es kommt selbst vor, daß nach dem Filtrieren durch L 2 das Filtrat nur in einer Dosis, die größer als 2 ccm ist, infiziert oder gar nicht mehr infiziert. Dies geschieht z. B. oft beim Filtrieren durch die feineren L 3-Kerzen.

Wird ein Sandfiltrat nach Gye mit Chloroform behandelt (Aufgießen von einigen Tropfen Chloroform auf 10 ccm des Filtrates und Bebrütung während 3 Std. bei 37° C), dann wird selbstverständlich eine Menge des Virus abgetötet werden. Man kann aber ohne das Tierexperiment niemals wissen, ob alles Virus in dem Extrakte getötet ist. Je nachdem das Sandfiltrat mehr oder weniger reich an Virus war, wird nach der Chloroformbehandlung die infizierende Dosis kleiner oder größer zu nehmen sein.

Die Wirkung einer konstanten Menge Chloroform auf konstante Mengen verschiedener Extrakte braucht daher nicht immer dieselbe zu sein.

Jedenfalls ist die Annahme nicht gestattet, daß ein Sandfiltrat nach Gye mit Chloroform nach der Behandlung immer unfähig ist, in der Menge von 2 ccm einen Tumor zu erzeugen. Jedes mit Chloroform behandelte Filtrat muß daher erst genau titriert werden, um die tödliche Wirkung des Virus zu konstatieren. Und zwar soll man sich nicht mit der Untersuchung von 2 ccm zufrieden stellen, sondern auch Mengen von 4 und 8 ccm untersuchen.

Da die mit Chloroform behandelten Extrakte sich nicht halten, muß man also beim Wiederholen der Versuche von Gye, wenn man, was unerläßlich ist, mit der wechselnden Infektiosität verschiedener Extrakte rechnen will, immer mit Filtraten arbeiten, welche mit steigenden Dosen Chloroform behandelt sind. Jeder dieser Extrakte muß dann gesondert mit den Kulturen aus den Tumoren usw. untersucht werden.

Wie sich gleich zeigen wird, wurde von mir immer in folgender Weise vorgegangen.

Zur Orientierung über den Wert des Chloroforms als Desinfiziens unter den von Gye geschaffenen Bedingungen schien es mir aber notwendig zu untersuchen, wie bekannte pathogene Keime sich beim Innehalten von Gyes Technik der Chloroformbehandlung gegenüber verhielten.

Ich dosierte dabei das Chloroform wegen der Ungenauigkeit eines solchen Verfahrens nicht nach Tropfen, sondern gab immer genau abpipettierte Mengen des Chloroforms an eine Suspension von 2 Oesen einer 24stünd. Kultur der Mikroben in 10 ccm Bouillon.

Die weitere Behandlung geschah genau nach Gyes Angaben.

Bei Mengen von 10 ccm einer Suspension von Staphylokokken, Coli-Bakterien und Choleravibrionen kamen jedesmal 0,05, 0,1, 0,2 und 0,3 ccm Chloroform hinzu. Nach 3stünd. Verweilen bei 37° C wurde der Inhalt der Röhrchen nach Entfernung des Chloroforms unter der Luftpumpe auf Sterilität untersucht.

Es zeigte sich, daß aus den Suspensionen mit 0,05 ccm Chloroform regelmäßig, aus solchen mit 0,1 ccm oft und aus solchen mit 0,2 ccm sehr selten Mikroben zu züchten waren. Die Menge von 0,3 ccm Chloroform hatte immer die Suspensionen sterilisiert.

Will man also sicher sein, daß bei Einhaltung der Gyeschen Technik stets alles im Filtrat abgetötet ist, so muß man die Filtrate notwendig mit denjenigen Mengen Chloroform behandeln, die auch bekannte Mikroben töten können. Es ist sogar wahrscheinlich, daß man mit Rücksicht auf die Erfahrung bei den filtrierbaren Virusarten (man denke an die große Resistenz des Vakzinevirus und an die des Virus der Maul- und Klauenseuche) größere Mengen als beim Abtöten von Mikroben brauchen wird.

Vollkommen im Einklang mit den Beobachtungen bei den Bakteriensuspensionen sah ich, daß ein mit 0,3 ccm Chloroform auf je 10 ccm behandeltes Rous-Sarkomfiltrat niemals ein Rous-Sarcoma gab, auch nicht, wenn man Mengen von 8 ccm und größere injizierte. Nur einmal war ein mit 0,2 ccm Chloroform behandeltes Filtrat imstande, einen kleinen, langsam wachsenden Tumor mit langdauernder Inkubation zu geben.

Fügt man zu 10 ccm der Filtrate 0.1 ccm Chloroform (was noch immer eine Menge von 6—7 Tropfen Chloroform bedeutet), so zeigt sich ein solches Filtrat in der Menge von 1 ccm gewöhnlich nicht imstande, einen Tumor hervorzurufen. Nur selten entwickelt sich nach längerer Inkubation bei dieser Dosis ein langsam wachsender Tumor. Tiere, welche 2, 4 oder 8 ccm solcher Extrakte injiziert erhalten haben, zeigen Tumoren, und zwar sind diese um so größer und entwickeln sich nach um so längerer Inkubation, je größer die Menge des injizierten Filtrats ist.

Die Bereitung brauchbarer Extrakte ist, wie schon Gye selbst angibt, nicht leicht. Er betont in seiner Mitteilung in „The Lancet" speziell die Bedeutung der Bereitung guter Extrakte. Fügt man beim Filtrat zu viel Chloroform oder läßt man Chloroform zu lange bei 37° C auf das Filtrat wirken, so werden die Extrakte unwirksam.

Das wird z. B. demonstriert durch untenstehende Tabelle, die als Chart 17 und 18 seiner Arbeit beigegeben ist.

Tabelle II.
(Chart 17 und 18 Gyes.)

a) Huhn 284 wird injiziert mit 1 ccm eines Sandfiltrates, bei welchem man zu wenig Chloroform gegeben hat. Huhn 285 mit 0,5 ccm des Filtrates + 0,5 ccm einer drei Tage alten primären Kultur von Karzinoma 63 und Huhn 286 mit 0,5 ccm des Filtrates mit 0,5 ccm physiologischer Salzlösung.

9. 5. 25	Befund am			Ergebnis
	11.	14.	21. Tg	
Huhn 284	—	—	+	Getötet am 23. Tage. Kleiner Tumor, keine Metastasen.
Huhn 285	—	+	+	Gestorben am 22. Tag. Großer Tumor. Metastasen in Lungen und in der Leber.
Huhn 286	—	—	—	Getötet am 42. Tag. Kein Tumor.

b) Versuch mit einem Sandfiltrat, auf das ein Uebermaß von Chloroform während 5 Stunden bei 27° C einwirkte.

9. 5. 25	geimpft mit	Befund am		
		7.	24.	42. Tg.
Huhn 287	1 ccm Filtrat	—	—	—
Huhn 288	0,5 ccm Filtrat + 0,5 ccm Kultur von Karzinoma 63	—	—	—
Huhn 289	0,5 ccm Filtrat + 0,5 ccm Kultur von Rattenkarzinom 9	—	—	—

Nach Gye wird beim Versuch b die chemische Substanz durch das Uebermaß von Chloroform in Kombination mit dem langdauernden Temperatureinfluß zerstört.

Man kann auch mit wenigstens ebensoviel Grund behaupten, daß eine große Dosis Chloroform, während 5 Std. bei 37° C mit dem

Extrakt zusammengebracht, sicher alles in dem Extrakt tötet, und daß Extrakte, welche mit wenig Chloroform auf viel schonendere Art bereitet sind, deshalb sich für die Gyeschen Experimente so gut eignen, weil nicht alles Virus in ihnen getötet wird.

Auch in England scheint man Gye auf die Möglichkeit, daß in seinen Extrakten nach der Chloroformbehandlung lebendes Sarkomvirus vorhanden war, hingewiesen zu haben.

In einer Arbeit im „Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde Eerste helft No 13" sagt er:

„Ein Einwand, welcher gegen diese Versuche speziell in England gemacht ist, ist, daß selbst bei den besten Resultaten man keine Gewißheit hat, ob das Chloroform das Virus im Rous-Geschwulstextrakt vollkommen getötet hat. Ich (Gye) selbst möchte weiter gehen, ich möchte meinen, daß dies höchstwahrscheinlich wirklich so ist."

Gye sagt wohl, weshalb er dieser Meinung ist; wenn aber eine Nachuntersuchung wie die meinige zeigt, daß man nur dann die Versuche Gyes bestätigen kann, wenn man für die Versuche Extrakte verwendet, in denen das Virus nicht abgetötet ist, so wird der feste Boden, den Gye seinen Untersuchungen und seiner Beweisführung gegeben zu haben glaubt, ganz untergraben.

Bei der Nachprüfung der Angaben Gyes wurde von mir immer das Sandfiltrat mit steigenden Dosen Chloroform behandelt. Bei einem Huhn wurde in verschiedene Muskelgruppen (Brust und Oberbeine) jedesmal 0,5 ccm von einem der Extrakte + 0,5 ccm von einer Kultur von Tumoren oder von normalen Organen injiziert.

Die Filtrate selbst wurden in Mengen von 1, 2, 4 und 8 ccm auf tumorbildende Eigenschaften untersucht.

Die Kulturen von Tumoren wurden nach Gyes Angaben angelegt, und zwar durch Einbringen von etwa 1 g Tumorgewebe in 5 ccm Hartley-KCl-Kaninchenserum und anaërobe Züchtung während 3 Tagen bei 37° C.

Außerdem wurden von mir auch Kulturen aus normalen Organen von Huhn und Cavia angelegt, da möglicherweise in den normalen Organen vielleicht ebenso wie aus den Tumoren eine Substanz zu extrahieren war, welche die gleiche Wirkung wie die Tumorkulturen hat. Wie im folgenden gezeigt werden soll, ist es mir tatsächlich gelungen, mit Kulturen — oder vielleicht richtiger — mit Extrakten aus normalen Organen vom Huhn und Cavia dieselben Resultate wie mit Tumorextrakten zu erhalten. Ja, die Rous-Sarkome entwickelten sich, wenn man Extrakte aus normalen Organen gebrauchte, nicht nur schneller und kräftiger, sondern auch die Inkubation des Tumors war bedeutend kürzer als bei der Injektion von Gemischen mit Extrakten aus Tumoren.

Eine Substanz, die in normalem wie im Tumorgewebe vorkommt, ist also fähig, Virus vom Rous-Sarkom derartig zu aktivieren, daß auch subinfektiöse oder nicht infektiöse Dosen des Extraktes zu maximaler Tumorbildung angeregt werden.

Bei allen Versuchen, sei es, daß man Tumor- oder Normalgewebeextrakte untersuchte, entstanden nur dann Sarkome, wenn das Sandfiltrat mit einem Quantum Chloroform behandelt worden war, daß, wie die positiven Resultate, die bei Verimpfung von 4 und 8 ccm derartiger Filtrate erreicht wurden, nicht ausreichte, alles Virus in den Extrakten zu töten.

Außer mit den Extrakten aus normalen Organen gelang die Akti-

vierung subinfektiöser Dosen der Rous-Filtrate auch mit Extrakten aus 14tägigen Hühnerembryonen und, wie aus der Tabelle V unter C zu sehen ist, war das auch möglich mit 0,5 ccm einer 7tägigen primären Kultur von Rous-Sarkom, das vorher zur Abtötung des Virus während 3 Std. bei 37 C mit einem Ueberschuß von Chloroform behandelt war.

Nach Gyes Erklärung des Mechanismus der Rous-Sarcoma-Aetiologie hätte das Resultat einer Impfung mit zwei Flüssigkeiten, die beide mit Chloroform behandelt waren, unmöglich gewesen sein müssen, da in beiden das Virus abgetötet und nur in chemischer Substanz vorhanden sein konnte.

Ich will in folgendem die Protokolle meiner Versuche wiedergeben, da diese besser als eine lange Beschreibung meine Versuchsanordnung und die damit und dabei erreichten Resultate illustrieren.

Tabelle III.

Ein Sandfiltrat aus Rous-Sarcoma wird mit 0,3 ccm Chloroform auf 10 ccm Filtrat behandelt und in der Dosis von 0,5 ccm für den Versuch verwendet.

Versuch am 12. Dezember 1925.

			7	14	21 Tg.
Huhn 1 12. Dez.	Linker Brustmuskel	0,5 ccm 3tägige anaërobe Kultur von Mäusesarkom + 0,5 ccm Sandfiltrat von Rous-Sarcoma (0,3 ccm Chloroform pro 10 ccm).	—	—	—
Huhn 2	„	2 ccm der 3tägigen anaëroben Kultur + 2 ccm des Sandfiltrates	—	—	—
Huhn 3	„	3 ccm von mit Chloroform behandeltem Sandfiltrat	—	—	—
	Rechter Brustmuskel	1 ccm des nicht mit Chloroform behandelten Sandfiltrats	+	+	+
			† am 4. Jan. 26.		

Wie ersichtlich, war das Resultat negativ, da durch die Dosis von 0,3 ccm Chloroform das Filtrat vollkommen sterilisiert war.

Ein Versuch, der am 20. Januar angesetzt wurde, gab ein vollkommen negatives Resultat. Es zeigte sich, daß weder Extrakt A (0,1 ccm Chloroform pro 10 ccm) noch Extrakt B (0,2 ccm Chloroform pro 10 ccm) imstande waren, einen Tumor zu erregen, selbst nicht in Dosen von 8 ccm.

Ein Huhn, mit 0,5 ccm des unbehandelten Filtrates injiziert, bekam nach einer Inkubation von mehr als 2 Monaten einen Tumor, der das Tier am 9. April tötete. Offenbar hatte ich bei diesem Versuch ein Sandfiltrat mit sehr wenig Virus der Chloroformbehandlung unterworfen, so daß das Chloroform die Extrakte sterilisiert hatte.

Am 3. Februar wurden wieder zwei Serien Extrakte für einen Versuch verwendet. A mit 0,1 ccm Chloroform pro 10 ccm und B mit 0,2 ccm Chloroform pro 10 ccm Filtrat.

Extrakt A gab in der Menge von 1 ccm einen kleinen Tumor. Ein Huhn wurde mit 1, 2, 4 und 8 ccm des Extraktes injiziert. An den Impfstellen mit 2, 4 und 8 ccm hatten sich große Tumoren gebildet. An der Impfstelle mit 1 ccm hatte der Tumor einen Diameter von kaum 1 cm, während die anderen Tumoren riesenhaft sich entwickelt und die ganze Fuß- und Brustgegend infiltriert hatten.

An der Stelle mit 4 ccm war bereits am 12 Februar ein Tumor zu sehen. Am 14. Februar war an der Stelle mit 2 ccm und am 15.

Tabelle IV. Von einem Sandfiltrat vom Rous-Sarcoma wird die Hälfte in Mengen von 10 ccm mit 0,1 ccm Chloroform pro 10 ccm (Extrakt A) behandelt, die andere Hälfte mit 0,2 ccm Chloroform pro 10 ccm (Extrakt B).

Bei der Kontrolle beider Extrakte zeigt sich, daß mit 1 ccm von A kein Tumor erzeugt werden kann, daß dagegen 4 ccm dieses Extraktes einen Tumor geben.

Extrakt B ist selbst in der Dosis von 8 ccm ohne Wirkung.

Nur an den Stellen, wo Tumoren- oder Gewebeextrakt zusammen mit A injiziert wurden, entwickeln sich Sarkome.

Versuch am 27. Dezember 1925.

			7.	14.	21.	28. Tag	Post mortem
Huhn 23	Linkes Bein	1 ccm Sandfiltrat A = (0,1 ccm Chloroform)	–	–	–	–	
	Rechtes Bein	0,5 ccm unbehandeltes Sandfiltrat	+	++	++	.	† 3. 2. 26. In allen Org Metastasen.
Huhn 24	Linkes Bein	4 ccm Filtrat A (0,1 ccm Chloroform)	–	+	+	+	+ 20. 1. getötet. Großer Tu l., r. auch mikroskopisch Abweichungen. Metast
	Rechtes Bein	4 ccm Filtrat B (0,2 ccm Chloroform)	–	–	–	.	
Huhn 25	Linkes Bein	0,5 ccm Filtrat A + 0,5 ccm Mäusesarkom-Kultur (1) (3 Tage alt)	–	–	++	++	+ 8. 2. 26 getötet. Metast großer Tumor l. R. auch mi skopisch keine Veränder
	Rechtes Bein	0,5 ccm Filtrat B + 0,5 ccm Mäusesarkom-Kultur (1) (3 Tage alt)	.	.	.	.	
Huhn 16	Linkes Bein	0,5 ccm Filtrat A + 0,5 ccm Mäusesarkom-Kultur (2) (3 Tage alt)	–	–	++	++	+ 3. 2. getötet. Keine M stasen, l. großer Tumor. auch mikroskopisch keine weichung.
	Rechtes Bein	0,5 ccm Filtrat B + 0,5 ccm usw.	.	.	.	.	
Huhn 22	Linkes Bein	0,5 ccm Filtrat A + 0,5 ccm Mäusesarkom-Kultur (2) (3 Tage alt)	–	–	+	++	† 15. 1. mit Metastasen in Leber, r. keine Veränderu
	Rechtes Bein	0,5 ccm B + 0,5 ccm usw.	.	.	.	.	
Huhn 19	Linkes Bein	0,5 ccm Filtrat A + 0 5 ccm Kultur von Adenokarzinoma (Maus Lignac)	–	–	–	–	Stirbt spontan am 25. 1. r. noch l. auch mikros keine Abweichung.
	Rechtes Bein	0,5 ccm Filtrat B + 0,5 ccm Kultur von Adenokarzinoma (Maus Lignac)	–	–	–	–	
Huhn 26	Linkes Bein	0,5 ccm Filtrat A + 0,5 ccm Kultur von normaler Hühnerleber	+	++	+	++	Stirbt am 22. 1. Großer T mit Metastasen in all ganen. R. keine Abweich
	Rechtes Bein	0,5 ccm Filtrat B + 0,5 ccm Kultur von normaler Hühnerleber	.	.	.	.	
Huhn 20	Linkes Bein	0,5 ccm Filtrat A + 0,5 ccm Kultur von normalem Nierengewebe Huhn	.	+	++	++	Stirbt am 2. 2. Großer l mit Metastasen. R. Abweichungen.
	Rechtes Bein	0,5 ccm Filtrat B + 0,5 ccm Kultur von normalem Nierengewebe Huhn	.	.	.	.	
Huhn 18	Linkes Bein	0,5 ccm Filtrat A + 0,5 ccm Kultur von Muskelgewebe Huhn	.	.	.	.	Das Tier stirbt spontan am 31. nach der Untersuchung. Bei duktion zeigt sich die Le vergrößert und sehr weich, ist grau, mit etwas grünlichen Auf der Oberfläche der Leber das Diaphragma zu findet altes Koagulum. In der freien höhle viel frisches Blut. Die
	Rechtes Bein	0,5 ccm Filtrat B + 0,5 ccm Kultur von Muskelgewebe Huhn	.	.	.	.	

sind hyperämisch und mit harten dicken Knötchen durchsetzt. Die Nieren sind vergrößert Im Muskelgewebe des rechten findet man, auch bei mikroskopischer Untersuchung, nichts Abnormales. Im Muskelgewebe des linken Beines ist schon makr Infiltrat zu sehen. Die Vena Saphena ist thrombosiert. Bei der mikroskopischen Untersuchung fand ich in allen Org mikroskopische Metastasen. Die mikroskopische Untersuchung der Impfstelle zeigt, daß sich bereits ein „Rous-S bildet, das pathologische Gewebe ist bereits weit zwischen den Muskelfibrillen fortgeschritten.

Februar an der Stelle mit 8 ccm ein Anfang von Tumorbildung zu fühlen.

An der Stelle mit 1 ccm zeigte sich der Tumor erst am 24. Februar.

Während sich an den Stellen mit 0,5 ccm von A + Extrakt aus Tumor oder aus normalem Organe Tumoren bildeten, blieb jede Tumorbildung bei den Mischungen mit 0,5 ccm B vollkommen fort.

Tabelle V.
Versuch am 3. Februar 1926.

		7.	14.	21. Tg.	Post mortem
Huhn 33. Linkes Bein	1 ccm Extrakt A = 0,1 ccm Chloroform pro 10 ccm Extrakt	.	.	.	† 3. 3. L. Bein kleiner Tumor, alle anderen Tumore kräftig.
Rechtes Bein	2 ccm Extrakt A	.	.	.	
Linke Brust	4 „ „ A	.	.	.	
Rechte Brust	8 „ „ A	.	.	.	
Huhn 49. Linkes Bein	1 ccm Extrakt B = 0,2 ccm Chloroform pro 10 ccm Extrakt	.	.	.	Keine Tumoren.
Rechtes Bein	2 ccm Extrakt B	.	.	.	
Linke Brust	4 „ „ B	.	.	.	
Rechte Brust	8 „ „ B	.	.	.	
Huhn 63. Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A + 1,0 ccm Kultur von Mäusesarkom	—	+	++	Stirbt am 20. 4. L. Tumor, mit Metastasen. R. kein Tumor.
Rechtes Bein	0,5 ccm Extrakt B + 1,0 ccm Kultur von Mäusesarkom	—	—	—	
Huhn 58. Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A + 1,0 ccm Kultur von Mäusekarzinom	—	—	+	Stirbt am 10. 4. An der Impfstelle sehr kleiner Tumor, sehr viele Metastasen in der Leber. R. keine Abweichung.
Rechtes Bein	0,5 ccm Extrakt B + 1,0 ccm Kultur von Mäusekarzinom	.	.	.	
Huhn 54. Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A + 1,0 ccm Kultur von Meerschweinchenleber	—	+	++	Stirbt am 12. 3. Tumor, viele Metastasen in der Leber. R. keine Abweichung.
Rechtes Bein	0,5 ccm Extrakt B + 1,0 ccm Kultur von Meerschweinchenleber	—	—	—	
Huhn 51. Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A + 1,0 ccm Kultur von Meerschweinchenniere	.	+	++	Stirbt am 9. 3. Metastasen in Lunge und Leber. R. keine Abweichung.
Rechtes Bein	0,5 ccm Extrakt B + 1,0 ccm Kultur von Meerschweinchenniere	.	.	.	
Huhn 57. Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A + 1,0 ccm primäre Kultur des Rous-Sarcoma mit 0,1 ccm Chloroform pro 10 ccm	—	+	++	Stirbt am 9. 3. Metastasen in Lungen, Leber u. Nieren. R. keine Abweichung.
Rechtes Bein	0,5 ccm Extrakt B + idem Rous-Sarcomakultur	.	.	.	

Am 8. Februar wurde wieder ein Versuch angesetzt mit Kulturen einer Metastase von einem Mammascirrhus in den Achseldrüsen.

Zwei Filtrate wurden verwendet. A_1 wurde mit 0,05 ccm Chloroform pro 10 ccm Filtrat behandelt und A mit 0,1 ccm Chloroform auf die gleiche Filtratmenge.

Auch dieser Versuch verlief vollkommen negativ.

Huhn 72, injiziert mit dem nicht behandelten Filtrat, starb am 5. März. An der Impfstelle von 1 ccm hatte sich ein erbsengroßer

Tabelle VI.

Versuch am 25. Februar 1926.

			Post mortem
Huhn 90 A.	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A 1 + 0,5 ccm Mäusesarkomkultur	Negativ
	Rechtes Bein	0,5 „ „ A + 0,5 „ „	„
	Linke Brust	0,5 „ „ B + 0,5 „ „	„
	Rechte Brust	0,5 „ „ C + 0,5 „ „	„
Huhn 89 B.	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A1 + 0,5 ccm Mäusekarzinomkultur	Negativ
	Rechtes Bein	0,5 „ „ A + 0,5 „ „	„
	Linke Brust	0,5 „ „ B + 0,5 „ „	„
	Rechte Brust	0,5 „ „ C + 0,5 „ „	„
Huhn 88 C.	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A1 + 0,5 ccm primäre Kultur Sarkom Rous, mit Chloroform behandelt	Das Tier stirbt am [illegible] Am l. und r. Bein [illegible] an der l. Brust ein Tu[illegible] Der Tumor am l. [illegible] ist größer als die an[illegible] Tumoren. In der Le[illegible] Metastasen.
	Rechtes Bein	0,5 „ „ A + 0,5 „ dgl.	
	Linke Brust	0,5 „ „ B + 0,5 „ „	
	Rechte Brust	0,5 „ „ C + 0,5 „ „	
Huhn 91 D.	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt Al + 0,5 ccm Meerschweinchen-leberkultur	Das Tier stirbt am [illegible] Am l. und r. Bein [illegible] Tumor. Der Tumor [illegible] l. Bein ist größer. [illegible]tastasen in der Leber.
	Rechtes Bein	0,5 „ „ A + 0,5 „ dgl.	
	Linke Brust	0,5 „ „ B + 0,5 „ „	
	Rechte Brust	0,5 „ „ C + 0,5 „ „	
Huhn 83 E.	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A1 + 0,5 ccm Meerschw.-Nierenkult.	Negativ
	Rechtes Bein	0,5 „ „ A + 0,5 „ „	„
	Linke Brust	0,5 „ „ B + 0,5 „ „	„
	Rechte Brust	0,5 „ „ C + 0,5 „ „	„
Huhn 97 E.	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A1 + 0,5 ccm Hühnerembryo	Stirbt am 6. 4. Am l. Bein und an der r. Brust ein Tumor. Der Tumor an dem l. Bein ist größer. Metastasen in der Leber
	Rechtes Bein	0,5 „ „ A + 0,5 „ „	
	Linke Brust	0,5 „ „ B + 0,5 „ „	
	Rechte Brust	0,5 „ „ C + 0,5 „ „	
Huhn 3	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A1 .	Negativ
	Rechtes Bein	1,0 „ „ „ .	„
	Linke Brust	2,0 „ „ „ .	„
	Rechte Brust	4,0 „ „ „ .	„
Huhn 6a	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt A .	Negativ
	Rechtes Bein	1,0 „ „ „ .	„
	Linke Brust	2,0 „ „ „ .	„
	Rechte Brust	4,0 „ „ „ .	„
Huhn 27/5	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt B .	Negativ
	Rechtes Bein	1,0 „ „ „ .	„
	Linke Brust	2,0 „ „ „ .	„
	Rechte Brust	4,0 „ „ „ .	„
Huhn 7	Linkes Bein	0,5 ccm Extrakt C .	Negativ
	Rechtes Bein	1,0 „ „ „ .	„
	Linke Brust	2,0 „ „ „ .	„
	Rechte Brust	4,0 „ „ „ .	„

Extrakt A1 = 10 ccm Sandfiltrat + 0,05 ccm Chloroform
„ A = 10 „ „ + 0,1 „ „
„ B = 10 „ „ + 0,15 „ „
„ C = 10 „ „ + 0,2 „ „

Ein Versuch am 27. 2. mit zwei Mammakrebsen verlief vollkommen negativ, auch hier zeigte die Untersuchung, daß im Sandfiltrat zu wenig Virus vorhanden war, da Hühner erst auf große Dosen des Filtrates reagierten, und Tiere, injiziert mit 4 und 8 ccm des mit Chloroform behandelten Filtrates, gesund blieben.

harter Tumor gebildet. An der Stelle mit 2 ccm Filtrat war der Tumor von Nußgröße und weich.

Huhn 70, injiziert mit 2, 4 und 8 ccm von Extrakt A_1 und A, zeigten keine Tumorbildung.

Offenbar war auch in diesem Fall im Sandfiltrat wenig Virus, weshalb der Versuch nicht gelang.

Am 25. Februar verwendete ich für einen Versuch vier Filtrate. A 1 mit 0,05 ccm, A mit 0,1 ccm, B mit 0,15 ccm und C mit 0,2 ccm Chloroform auf je 10 ccm des Filtrates.

Huhn 84, injiziert mit Mengen von 0,1, 0,25 und 0,5 ccm des unbehandelten Sandfiltrates, stirbt am 6. April. Auf allen Impfstellen hatten sich Tumoren gebildet und in allen Organen findet man Metastasen.

Hühner, injiziert mit 0,5, 1, 2 und 4 ccm von A 1, A, B und C, bekommen keine Tumoren.

Nur an solchen Stellen, wo Mengen von 0,5 ccm A 1, mit Extrakten aus normalen Organen eines 7 Tage alten Hühnerembryos und aus 7tägiger primärer, mit Chloroform behandelter Rous-Sarkomkultur injiziert sind, bilden sich Tumoren.

Zu beachten ist, daß in diesem Experiment an den Stellen, wo das Filtrat gemischt mit Tumorextrakten injiziert worden war, sich kein Tumor gebildet hatte; die Impfstellen zeigten sich bei der mikroskopischen Untersuchung als normal.

Fasse ich die Resultate dieser Versuchsserien zusammen, so sehen wir, daß nur dann die Angaben Gyes von mir bestätigt werden können, wenn ich als „spezifischen Faktor“ ein Sandfiltrat aus einem Rous-tumor verwende, in welchem das Virus durch eine für eine völlige Sterilisation ungenügende Menge Chloroform nicht ganz abgetötet ist.

Die Versuche haben immer ein negatives Resultat, wenn man Filtrate aus Rous-Tumoren verwendet, in welchen das Virus, wie die Kontrollen von 4 und 8 ccm des Filtrates lehren, sicher vernichtet ist.

Sodann zeigen die Versuche, daß man Resultate, die nicht nur genau mit denjenigen Gyes übereinstimmen, sondern diese an Schnelligkeit des Auftretens und Größe der Tumoren sogar übertreffen, erreichen kann, wenn man die Kulturen (Extrakte) aus Tumoren durch solche aus normalen Organen etc. ersetzt.

Nebenbei sei erwähnt, daß eine Kontrolle der aktivierenden Wirkung der Hartley-Bouillon ein vollkommen negatives Ergebnis gezeitigt hat.

Es wäre sicher zu kühn, dieses Ergebnis mit der Annahme zu erklären, daß das Virus in allen von mir untersuchten Flüssigkeiten vorkommen sollte.

Viel logischer ist die Erklärung, daß in den Extrakten oder Autolysaten vom Tumorgewebe und in weit höherem Grade und mit größerer Aktivität in solchen aus normalem Gewebe sich eine Substanz findet, die fähig ist, Virusmengen von Rous-Sarkomen, die selbst keine Tumorbildung hervorrufen können, so zu aktivieren, daß sie kräftige tumorerregende Eigenschaften erlangen.

Ich neige also dazu, die Schlüsse Gyes ganz umzukehren!

Wo er meint, daß ein ubiquitäres Virus von Tumoren existiert, das für seine Wirkung einen spezifischen Faktor aus Tumorgewebe braucht, wo er also das Virus als nicht spezifisch und die chemische Substanz als spezifisch betrachtet, da schließe ich, daß ein solches ubi-

quitäres Tumorvirus nicht existiert, daß im Gegenteil das Virus des Rous-Sarkoms spezifisch für das Rous-Sarkom is, und daß dieses spezifische Virus, in subinfektiösen Dosen injiziert, durch ein nicht spezifisches aus verschiedenen Tumoren und normalen Organen von im zoologischen System weit auseinander stehenden Tiergruppen aktiviert werden kann.

Am Schlusse dieser Arbeit werde ich zeigen können, daß man mit dieser Erklärung die beobachteten Tatsachen zurückführen kann zu einer Gruppe von Erscheinungen, welche schon lange bei verschiedenen bakteriellen Infektionskrankheiten bekannt sind.

Jetzt möchte ich noch etwas über Versuche, das Virus aus den primären Kulturen zu zentrifugieren, berichten.

Diese Versuche wurden genau nach den Vorschriften Gyes angestellt. Ich erweiterte sie aber dadurch, daß ich auch das Wasser, mit dem das Zentrifugat gewaschen wird, ferner die Flüssigkeit, welche man durch Zentrifugieren der primären Kultur in mit Agar bekleideten Röhrchen bekommt, außerdem mit Chloroform desinfizierte und auch Extrakte aus normalen Organen auf ihre aktivierende Wirkung dem gewaschenen Niederschlag gegenüber untersuchte.

Im ganzen wurde der Versuch dreimal angesetzt.

Tabelle VII.
Versuch am 26. 1. Das Virus mit dem spezifischen Faktor auszuzentrifugieren.

			7.	14.	21. Tg.	Post mortem
Huhn 42.	Linkes Bein	1 ccm Kultur (7 Tage alt) von Rous-Sarcoma in Hartley-K. Cl., K. S. Maltose	—	++	+++	Stirbt am 11. 3. Metastasen in allen Organen.
Huhn 43.	Linkes Bein	2 ccm Flüssigkeit oberhalb des Zentrifugats in dem mit Agar beschickten Röhrchen.	.	+	++	Stirbt am 20. 4. Großer Tumor. Metastasen in der Lunge.
Huhn 41.	Linkes Bein	0,6 ccm zweimal gewaschener Niederschlag aus der zentrifugierten Bouillon.	.	.	.	Negativ.
Huhn 40.	Linkes Bein	1 ccm mit Agar zentrifugierter Bouillon + 0,4 ccm gewaschener Niederschlag.	.	.	.	Negativ.
Huhn 37.	Linkes Bein	1 ccm von mit Chloroform behandelter Bouillon aus dem Agarröhrchen + 0.4 ccm gewaschener Niederschlag.	.	.	.	Negativ.
Huhn 36.	Linkes Bein	1,5 ccm der ohne Agar zentrifugierten 7tägigen Rous-Sarcomakultur.	+	++	+++	Stirbt am 3. 3., große Metastase in der Leber. Großer Tumor an der Impfstelle.
Huhn 38.	Linkes Bein	2,5 ccm des Waschwassers des Niederschlages.	—	—	—	.

Wir sehen, daß der Versuch vom 26. Januar ein ganz negatives Resultat geliefert hat. Wohl ist die primäre Kultur in der Dosis von 1 ccm infektiös und auch die Bouillon hat nach dem Zentrifugieren ihre Infektiosität beibehalten. Ein Huhn 432, injiziert mit 2 ccm der Flüssigkeit nach dem Zentrifugieren in den mit Agar bekleideten Röhrchen, gibt ebenfalls einen Tumor, ein Beweis dafür, daß auch beim

Zentrifugieren mit Agar 2 ccm der primären Kultur nicht immer wirkungslos sind.

An der Impfstelle von dem Niederschlag + Kulturflüssigkeit bildete sich kein Tumor.

In diesem Versuch konnte das Waschwasser keinen Tumor hervorrufen.

Tabelle VIII.

Versuch am 3. 2. zur Scheidung des Virus vom spezifischen Faktor mittels der Zentrifuge.

		7.	14.	21. Tg.	Post mortem
Huhn 50. Linkes Bein. A.	2 ccm Flüssigkeit oberhalb des Zentrifugats aus dem Agarrohr. Die Kultur wurde mit 0,2 ccm Chloroform pro 10 ccm behandelt	.	.	.	— — — —
Huhn 52. Linkes Bein. B.	0,6 ccm gewaschener Niederschlag + 0,4 ccm NaCl-Lösung	.	.	.	— — — —
Huhn 60. Linkes Bein. C.	1 ccm Bouillonkultur aus dem Agarrohr + 0,4 ccm Niederschlag	.	.	.	— — — —
Huhn 61. Linkes Bein. D.	1 ccm der ohne Agar zentrifugierten Bouillonkultur + 0.4 ccm Niederschlag	.	+	++	Stirbt am 10. 3. Metastasen in der Leber.
Huhn 56. Linkes Bein. E.	2 ccm Bouillonkultur ohne Agar zentrifugiert	.	.	.	Stirbt am 12. 3. Metastasen in Lungen u. Leber.
Huhn 62. Linkes Bein. F.	2 ccm anaërobe Meerschweinchenleberkultur + 4 ccm Niederschlag	.	.	.	— — — —
Huhn 47. Linkes Bein. G.	1 ccm anaërobe Meerschweinchennierenkultur + 0,4 ccm Niederschlag	.	.	.	— — — —
Huhn 19. Linkes Bein. H.	1 ccm primäre Kultur des Rous-Sarkom	—	+	++	Stirbt am 3.3., keine Metastasen, großer Tumor.
Huhn 64. Linkes Bein.	4 ccm Waschwasser 1. Zentrifugieren				Nur am linken Bein ein Tumor. Stirbt am 20. 4.
„ 64. Rechtes „	2 „ „ 1. „				
„ 64. Linke Brust	2 „ „ 2. „				
„ 64. Rechte „	4 „ „ 4. „				

Auch hier zeigt sich 1 ccm der 7tägigen primären Kultur infektiös.

4 ccm des ersten Waschwassers geben einen Tumor. Ein positives Resultat gibt ein Versuch mit Gemischen von gewaschenem Zentrifugat und 1 ccm der Kulturflüssigkeit, die ohne Agar zentrifugiert ist.

Da im Versuch vom 26. Januar 1,5 ccm einer derartigen Flüssigkeit und in dem vom 3. Februar 2 ccm der nicht mit Agar zentrifugierten primären Kultur ebenfalls ein positives Resultat ergaben, erachte ich den Wert dieses positiven Resultates gering, besonders auch, da das Gemisch vom Zentrifugat + mit Agar zentrifugierter Flüssigkeit ein negatives Resultat liefert. (Siehe Tab. IX, S. 348.)

Auch in diesem Versuch erweist sich 1 ccm der primären Kultur als infektiös. Ein Huhn, infiziert mit dem Waschwasser, stirbt spontan am 11. März; zeigt aber auf keiner der Impfstellen, auch nicht bei der mikroskopischen Untersuchung, einen Tumor.

Huhn 81, infiziert mit einem Gemisch vom gewaschenen Nieder-

Tabelle IX.
Versuch vom 25. 2. zur Scheidung des Virus vom spezifischen Faktor durch Zentrifugieren.

		7.	14.	21. Tg.	Post mortem
Huhn 85. Linkes Bein	2 ccm Bouillonkultur aus dem mit Agar beschickten Zentrifugenrohr	.	.	.	Negativ.
Huhn 86. Linkes Bein	0,6 ccm gewaschener Niederschlag + 1,4 ccm NaCl-Lösung	.	.	.	Negativ.
Huhn 81. Linkes Bein	0,4 ccm gewaschener Niederschlag + 1 ccm Bouillonkultur aus dem mit Agar beschickten Zentrifugenrohr	—	—	+	Stirbt am 5. 4. An der Impfstelle ein kleiner Tumor, in der Leber und in den Lungen viele Metastasen.
Huhn 80. Linkes Bein	1 ccm primäre Kultur des Rous-Sarkom	—	+	++	Stirbt am 31. 3. Großer Tumor mit Metastasen in allen Organen.
Huhn 94. Linke Brust	5 ccm des ersten Waschwassers	.	.	.	Stirbt spontan am 11. 3. Auch mikroskopisch an keiner der Impfstellen ein Tumor.
Huhn 94. Rechte Brust	5 ccm des zweiten Waschwassers				

schlag und 1 ccm der Flüssigkeit aus den mit Agar bekleideten Zentrifugenröhrchen gibt ein positives Resultat.

Die Zahl der Versuche aus dieser Serie ist zu klein, um aus ihnen Schlüsse ziehen zu können.

Gye sagt selbst, daß es nicht leicht ist, Resultate zu bekommen, die wie in dem Versuch vom 25. Februar stimmen.

Es gelang mir bei diesem Versuche zwar nicht, das Zentrifugat mit Extrakten aus normalen Organen zu aktivieren, aber das bedeutet noch nicht, daß eine derartige Aktivierung später bei der Wiederholung der Versuche nicht möglich sein wird. Ein negatives Resultat bei Versuchen dieser Art besagt wenig. Man achte auf Tabelle VI, wo sich zeigt, daß Extrakte aus normalen Organen und auf Tabelle V und VI, daß solche aus Tumoren nicht immer die subinfektiöse Dosis eines Rous-Sarkoms aktivieren könne.

Immerhin werden die Versuche fortgeführt. Bemerkenswert ist, daß ich das einzige positive Resultat (25. Febr.) einer Kultur verdanke, wo die Bouillon mit Glukose gemischt war, während bei den anderen Versuchen das Rous-Sarkomgewebe in mit Maltose versetzter Bouillon gezüchtet war (26. Januar und 3. Februar).

Der Umstand, daß ich keine Hühner, die jünger als 6 Wochen waren, erhalten konnte, zwang mich, die Versuche abzubrechen.

Ich teile die von mir erreichten Resultate schon jetzt mit, da der Versuch vom 3. Februar zeigt, daß es gelingt, einen Teil, vielleicht sogar einen großen Teil des Virus aus dem Zentrifugat durch Waschen zu entfernen.

In dem positiven Versuch gab das erste Waschwasser in der Dosis von 4 ccm ein positives Resultat. Mit 2 ccm des Wassers war kein Tumor zu erzeugen. Die Erwartung, daß in diesem Fall das zweite Waschwasser ein negatives Resultat liefern würde, wurde bestätigt.

Daß man das Virus nicht immer im Waschwasser demonstrieren

kann, zeigen die Versuche vom 26. Januar und 25. Februar. Es ist mir momentan nicht möglich, den Grund hierfür anzugeben.

Es erscheint mir aber mit Rücksicht auf die Ergebnisse der Versuche mit den Gewebeextrakten sehr wahrscheinlich, daß in den Fällen, wo die Kombination: gewaschener Niederschlag + Flüssigkeit aus den mit Agar bekleideten Röhrchen einen Tumor erzeugt, noch Rous-Sarkomvirus in subinfektiöser Dosis vorhanden ist, und daß dieses Virus durch die in Agarröhrchen zentrifugierte Kulturflüssigkeit aktiviert wird.

Ich komme jetzt zu dem zweiten schwachen Punkt in Gyes Versuchen, und zwar zu dem Zusammenhang, den er annimmt zwischen dem Virus des Rous-Sarkom und dem Virus, das als ätiologischer Faktor des Mäusesarkoms und anderen malignen Geschwülsten eine Rolle spielen soll.

Es gelang ihm bekanntlich, mit zellfreiem Filtrat von Kulturen des Mäusesarkoms (S 37) bei Mäusen Sarkome zu erzielen.

Bei der Kontrolle dieser Mitteilung bin ich genau den Vorschriften Gyes gefolgt. Im ganzen wurden 60 Mäuse von mir geimpft. Das Resultat war immer negativ. Selbst durch Injektion der nicht filtrierten klaren Bouillon über den Gewebestücken war es mir nicht möglich, bei Mäusen Sarkome zu erzeugen. Ich stehe mit solchen negativen Resultaten nicht allein.

In Nr. 4 der Comptes rendus de la Société de Biologie berichten Melle, E. Harde und Mme P. Henri über die Filtrierbarkeit des Mäusesarkoms 37/S. 43 Mäuse, die von ihnen mit Filtraten von 37 S-Kulturen in Hartley-Bouillon infiziert waren, gaben ein negatives Resultat.

Im Gegensatz zu Gye, der fand, daß Stückchen eines Sarkoms 37/S, in Ringer-Lösung bei 37° C aufbewahrt, bereits nach 18 Std. nicht mehr transplantabel waren, fanden sie, daß die auf diese Art aufgehobenen Sarkomstückchen noch nach 24 Std. und länger zu transplantieren waren.

In ihrer Publikation erwähnen Harde und Henri, daß Gye und Kramer von dem National Cancer Research Fund, die die Untersuchungen Gyes wiederholten, in einer persönlichen Mitteilung berichteten, daß sie auf 50 mit dem Filtrat geimpften Mäusen nur ein positives Resultat bekamen.

Gegen diesen Bericht haben Cramer und Begg protestiert. Es scheint, daß Melle Harde sich in den Namen der von ihr in London besuchten Untersucher geirrt hat. Die englischen Untersucher werfen Melle Harde vor, daß sie über eine persönliche Aussprache bereits geschrieben hat, während die Herren ihre Untersuchungen, die noch nicht ganz abgeschlossen waren, noch nicht bekanntgeben wollten.

Sie leugnen die Angaben von Harde und Henri, daß sie genau wie Gye fanden, daß bei 37° C in Ringer-Lösung gehaltene Tumorstückchen nach 18 Std. nicht mehr transplantabel sind. Sie hatten Melle Harde im Gegenteil gesagt, daß die Impfversuche oft im Gegensatz zu Gyes Angaben ein positives Resultat lieferten mit Stückchen, welche 24 Std. anaërob gezüchtet waren.

Summa summarum haben also weder Harde und Henri, noch Cramer und Begg die Resultate Gyes bestätigen können.

Die dritte schwache Stelle in der Arbeit Gyes glaube ich zu sehen in der Tatsache, daß nicht alle pathologischen Anatomen das Rous-Sarkom als typisches Sarkom ansprechen.

Die Herren Prof. Tendeloo und Dr. Lignac waren so freundlich, mir bei den histologischen Untersuchungen der Tumoren zu helfen und mir folgenden Bericht über ihre Befunde zu geben:

„Wir untersuchten das sogenannte spindelzellige Sarkom des Huhnes (spindle celled sarcoma of the fowl) von Rous. Die Diagnose Sarcoma wird jedoch nicht von allen pathologischen Anatomen als richtig anerkannt.

Im pathologischen Institut der Universität Leiden kamen zur Untersuchung:

1. Ein von Prof. Albert Fischer geschenkter Brusttumor und Metastasen dieses Tumors aus der Leber desselben Huhnes.

2. Ein Rous-Tumor, welchen Dr. Bonne aus Amsterdam Prof. Flu schenkte.

3. Tumoren und Metastasen, sich bildend bei Hühnern, welche in Leiden von Prof. Flu mit dem Rous-Sarcom aus Amsterdam geimpft wurden.

Die vergleichend-histologische Untersuchung der genannten Tumoren und Vergleichung mit den Abbildungen, welche Rous selbst von den Tumoren gibt, und zwar in „The Journal of experimental Medicine", Vol. 17, 1913, p. 219 „Variations in a Chickensarcoma caused by a filterable agent", und zwar Taf. 43, Fig. 4 zeigt, daß die untersuchten Tumoren mit den von Rous beschriebenen vollkommen übereinstimmen.

Das Resultat dieser Untersuchungen zeigt: Typisches Sarkomgewebe ist nicht zu sehen, also schon deshalb zweifelhaft. Die spindelförmigen Bindegewebszellen mit ei- oder spindelförmigen Kernen geben auch keinen Hinweis auf schnell wachsende Tumoren, was sie laut den klinischen Beobachtungen doch sein sollten. Weiter sieht man regelmäßig selbst in kleinen Tumoren Nekrose, scheinbar ohne daß starke Spannung des Gewebes besteht, was auf starke lokale Giftwirkung hindeutet.

Aber außer der Vermehrung der Bindegewebszellen, welche auch feine Fäserchen bilden, und Nekrose sind noch zu konstatieren: zelliges Exsudat, wie eosinophile Leukozyten, polymorphkernige Leukozyten, Lymphozyten und Plasmazellen, und zwar weit außerhalb des nekrotischen Gebietes oder in Tumorstückchen ohne Nekrose. Bemerkenswert ist auch, daß in Celloidinpräparaten, wo die Zellen nicht geschrumpft sind, die Bindegewebszellen in einiger Entfernung voneinander liegen (Oedem).

Diese histologischen Veränderungen sind zu betrachten als die Folgen einer Entzündung, und zwar als einer zellig-proliferativen Entzündung, wie wir sie so gut kennen bei malignem Granulom und Tuberkulose. Auch darf man nicht übersehen, daß bei dieser zellig-proliferativen Entzündung, und zwar in der mehr chronischen Phase, die exsudativen Veränderungen sich rückbilden, wodurch die Proliferation des Bindegewebes dominiert, doch ist auch solches Bindegewebe das Produkt einer Entzündung und kein autonom gewuchertes Bindegewebe. Weiter muß man darauf achten, daß rasche Vergrößerung nicht immer identisch ist mit raschem Wachstum. Das letzte kann auch durch Blutungen und Exsudation verursacht sein, und beide kommen bei diesen Gebilden vor.

Das Bild des infiltrierenden Wachstums findet man auch beim entzündlichen Granulationsgewebe. Metastasen findet man bei Infektionen ebenfalls.

Es gibt weiter keinen Grund zu meinen, daß man es bei den beschriebenen Gebilden mit Sarkom und Entzündung des Sarkomgewebes zu tun hat, da man Gewebe, das auch mit geringer Berechtigung als Sarkom aufzufassen ist, nicht in den sogenannten **Rous-Sarkomen** findet.“

Uebersehen wir alles noch einmal, so zeigt sich, daß meine Resultate die Ansicht Gyes, daß für das Entstehen eines Rous-Sarcoma notwendig ist, daß zwei Substanzen, ein züchtbares (?) Ultravirus aus artverschiedenen Tumoren und ein spezifischer Faktor aus Rous-Sarkom, zusammenwirken müssen, nicht stützen.

Sie stützen seine Meinung, daß der korpuskuläre Teil des Agens im Rous-Sarkom (das Virus) ubiquitär in vielen Tumoren vorkommt, also nicht.

Auch die vermeintliche Züchtbarkeit des Virus in Hartley-Bouillon kann nicht als erwiesen betrachtet werden.

Da es weiter weder mir noch Henri gelungen ist, mit dem Filtrat von Sarkomen von Mäusen gesunde Mäuse zu infizieren, und da Harde und Henri berechtigte Einwände gegen Gyes Versuche erhoben haben, ist es sicher nicht gestattet, weiter diese vermeintliche Filtrierbarkeit anzunehmen, bis nicht möglichst zahlreiche Untersucher diese Angaben nachgeprüft und bestätigt haben.

Schließlich macht der Umstand, daß viele pathologische Anatomen das Rous-Sarkom nicht als Sarkom ansprechen können, es fraglich, ob die Untersuchungen Gyes, die basieren auf Untersuchungen einer Neubildung, die kein echter Tumor ist, einen Wert für die Geschwulstätiologie besitzen.

Die von mir beobachtete Tatsache, daß nicht nur Extrakte aus Tumoren, sondern auch solche aus normalen Organen subinfektiöse Dosen Rous-Sarkomvirus aktivieren können, führt die Beobachtungen Gyes zurück auf eine Gruppe von Erscheinungen, auf welche Bail 1904 als erster im Anschluß an theoretische Betrachtungen Kruses die Aufmerksamkeit gelenkt hat.

Bekanntlich meint Bail, daß Bakterien nur dann zur Infektion und Krankheit führen können, wenn sie beim Hineingelangen in den Körper bestimmte Stoffe, sog. Aggressine, entstehen lassen.

1) Das Aggressin macht subletale Dosen von Bakterien zu letalen, wenn es zusammen mit der subletalen Dosis in den Körper gelangt.

2) Das Aggressin veranlaßt ein stürmischeres und heftigeres Krankheitsbild als bei den Kontrolltieren.

3) Das Aggressin lähmt die Schutzmittel des Organismus.

Meerschweinchen sind z. B. sehr empfindlich für Schweinepestbazillen; $^1/_{10}$ Oese einer 24stünd. Kultur tötet z. B. ein Meerschweinchen in 3 Tagen, während $^1/_{100}$ oder $^1/_{1000}$ Oese einer derartigen Kultur keine Wirkung hat.

Infiziert man ein Meerschweinchen mit $^1/_{100}$ oder $^1/_{1000}$ Oese von Schweinepestbazillen und spritzt die Tiere gleichzeitig mit 1,5 bzw. 3 ccm eines sterilisierten Exsudats aus der Brusthöhle eines Meerschweinchens, das einer tödlichen Infektion mit Schweinepestbazillen erlegen ist, so sterben die Tiere.

Im Exsudat sind eben die die Infektion fördernden Aggressine vorhanden.

Wassermann und Citron konnten aber zeigen, daß solche Exsudate eine sehr große Zahl von Schweinepestbazillen enthielten. Sie

erklären die aktivierende Wirkung der sterilisierten Exsudate durch die infektionsfördernde Wirkung der Endotoxine.

Sie bereiteten künstliche Aggressine, und zwar durch Extraktion junger Bazillen mit destilliertem Wasser. Mit solchen künstlichen Aggressinen hatten sie die gleichen Resultate wie Bail mit den natürlichen.

Später ist auch noch gezeigt worden, daß die aktivierende Wirkung nicht allein durch Extrakte aus artgleichen Keimen gelingt, sondern daß auch fremde Bakterienextrakte aktivierend auf subletale Dosen von anderen Bakterien wirken können.

Eine große Literatur hat sich über die Aggressinfrage gebildet. Die theoretischen Betrachtungen Bails sind kritisiert worden, die von ihm gefundenen Tatsachen sind aber vollkommen bestätigt worden. Ich kann hier nicht näher auf den Gegenstand eingehen; es möge genügen, nur auf die große und treffende Analogie zwischen der aktivierenden Wirkung von Bakterienextrakten auf subletale Dosen pathogener Mikroben und die aktivierende Wirkung von Gewebeextrakten (Tumoren und normalen Organen) auf nicht infektiöse Dosen des Agens aus dem Rous-Sarkom hinzuweisen.

Literatur.

W. E. Gye, New Research into the origin of cancer. The Aetiologie of Malignant New growths. The Lancet. Juli 18. 1925. p. 109. — Hartley, P., Journ. Path. and Bakt. 1922. XXV. p. 482—483. — Gye, W. E., Het vraagstuk der aetiologie van de kwaadaardige nieuwvormingen. (Nederl. Tijschr. v. Geneesk. 1926. Bd. 13. p. 1268. — Harde, E. et Henri, P., Essais de Filtration du virus d'un sarcome de la Souris. (Compt. rend. Soc. de Biol. 1926. p. 251.) — Cramer, W. et Begg, A. W., Note à propos de la communication de Melle E. Harde et Mme P. Henri. (Ibid. 1926. p. 663.) — Harde, E., Sur la Fitration du virus d'un Sarcome de la Souris Réponse à M. M. Cramer et Begg. (Ibid. 1926. p. 732.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5505

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 99. Heft 6.

Ausgegeben am 20. August 1926.

Lebensmittelbakterien- und Vergiftungen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock (Direktor: Dr. v. Wasielewski).]

Von Stabsarzt Dr. **Brekenfeld.**

Bei Durchsicht der Arbeiten, die sich mit der Kasuistik und Aetiologie von Lebensmittelvergiftungen einschließlich der sogenannten Fleisch- und Wurstvergifftungen befassen, fällt es auf, wie zahlreich die Fälle ursächlich ungeklärt gebliebener Lebensmittelvergiftungen sind. Diese Tatsache erscheint ohne weiteres erklärlich für die Fälle, z. B. im letzten Viertel des vorigen Jahrhunderts, in welchem die Grundlagen für systematisches bakteriologisches Arbeiten erst geschaffen wurden; sie läßt sich aber bei den Vergiftungen der jüngsten Zeit nur verstehen, wenn man bedenkt, wie uneinheitlich gerade die bakteriologische Untersuchung von Lebensmitteln noch jetzt gehandhabt wird.

Ob und in welcher Weise eine bakteriologische Untersuchung von verdächtigen Nahrungsmitteln stattfindet, hängt nicht nur ab von den betreffenden ärztlich oder tierärztlich geleiteten bakteriologischen Untersuchungsstellen, sondern in vielen Fällen auch von den Nahrungsmittelchemikern, welche das Material oft als erste in den Lebensmittel-Untersuchungsanstalten in die Hände bekommen.

So ist es verständlich, daß die Untersuchungsmethoden und Ergebnisse verschieden sind, je nach der Vorbildung und Einstellung des untersuchenden Arztes, Tierarztes oder Chemikers. Werfen wir einmal einen Blick in den Beitrag zur Kasuistik der Fleischvergiftungen 1913/22 aus der Veterinärabteilung des RGA. (1), so finden wir von den 18 aufgeführten Fleischvergiftungen bei 8, daß die bakteriologische Untersuchung ein negatives Resultat hatte. In 5 anderen Fällen hat man sich mit der allgemeinen Feststellung „Fäulnisbakterien oder Gasbildner" begnügt. In einer anderen Arbeit aus dem RGA., „Fleischvergiftungen im Deutschen Reiche im Jahre 1923" (2) lesen wir, daß von 1105 Gesamterkrankungen bei 601, also bei über der Hälfte, die Ursache ungeklärt blieb. Erwähnt sei ferner die Zusammenstellung von G. Mayer 1913 „Massenerkrankungen durch Nahrungs- und Genußmittel" (3) in der er unter anderem angibt, daß von 62 Würsten, nach deren Genuß Erkrankungen aufgetreten waren, 12 als steril befunden wurden.

Diese unbefriedigenden Resultate einerseits und die Hinweise zahlreicher Autoren, es könnte sich bei unklaren Fällen von Lebensmittelvergiftungen vielleicht um die Toxinwirkung von Anaërobiern handeln, andererseits, ließen die Aufgabe als denkenswert erscheinen, Lebensmittel, besonders Fleischwaren, systematisch nicht nur auf Aërobier, sondern vor allem auch auf Anaërobier hin zu untersuchen, worüber außer meiner kurzen Mitteilung in der Zeitschr. f. Nahrungs- und Genußmittel (4), brauchbare Ergebnisse in der Literatur bisher nicht zu

finden sind, wenn von den Untersuchungen auf Botulinus abgesehen wird.

Besonderes Interesse habe ich bei meinen systematischen Untersuchungen denjenigen bei der Lebensmittel-Untersuchungsstelle des Hygienischen Instituts Rostock eingelieferten Nahrungsmitteln entgegengebracht, nach deren Genuß Erkrankungen aufgetreten waren. War doch zu hoffen, neben Fleischwaren mit aërober und anaërober Bakterienflora auch solche äußerlich einwandfreie anzutreffen, in denen bei sorgfältigster Anwendung aller Züchtungsmethoden nur Anaërobier zu finden waren. Zutreffendenfalls hätte eine gewisse Berechtigung vorgelegen, diese dann in ursächliche Verbindung zu bringen mit den Krankheitserscheinungen.

Voraussetzung für einen solchen Rückschluß mußte sein, daß von den gefundenen Bakterien Giftstoffe unter bestimmten Bedingungen in Lebensmitteln gebildet werden können, welche bei Menschen Magen-Darmstörungen usw. herbeizuführen geeignet sind, ohne daß eine Infektion mit diesen Keimen in Frage kommt. Zwei Autoren haben versucht in dieser Richtung vorzuarbeiten: Xaver Seeberger (5) und Korentschewsky (6). Ihrer Besonderheit wegen muß ich auf diese Arbeiten näher eingehen, zumal sie meines Erachtens zu wenig beachtet werden.

Seeberger untersuchte 1918 die Wirkung von Extrakten aus infiziertem und nicht infiziertem Fleisch auf den überlebenden Darm verschiedener Versuchstiere. Zu diesem Zwecke brachte er den Darm frisch getöteter Versuchstiere in 37^{0} warme, von Sauerstoff durchströmte Ringerlösung in einer Versuchsanordnung, die gestattete, die durch Einwirkung verschiedener Extrakte ausgelöste Darmbewegung kurvenmäßig genau zu registrieren.

Als Versuchstiere dienten weiße Ratten, Hunde, Katzen und Meerschweinchen. Untersucht wurde die Einwirkung auf den überlebenden Darm 1) von Bakterienleibessubstanzen, 2) der Extrakte von frischem Fleisch, 3) der Extrakte von Fleisch verschiedenen Alters, welches mehr oder weniger durch die äußeren Umstände akzidentell infiziert war, 4) von Extrakten aus Fleisch, das mit Reinkulturen infiziert war.

Seeberger kommt auf Grund seiner Versuche zu folgendem Ergebnis: Zu 1) Extrakte aus Bacterium paratyphus B, enteritidis Gärtner, coli commune, Proteus, Mesentericus, Subtilis und Staphylokokken haben auf den überlebenden Darm von Ratte, Hund, Katze und Meerschweinchen keine ausgesprochene Wirkung. Höchstens läßt sich bei einigen Bakterien hie und da eine gewisse Tonusschwankung und eine geringe Einwirkung auf die Kontraktionsstärke feststellen. Zu 2): Extrakte von ganz frischem und konsumfrischem Fleisch wirken auf den überlebenden Ratten- und Hundedarm ein im Sinne einer Tonusabnahme mit Abschwächung der Kontraktionen. Während sich aber im weiteren Verlauf der Rattendarm schnell erholt, die Kontraktionen sogar stärker werden können, dauert beim Hundedarm die Depression an. Bemerkenswert ist, daß sich Extrakte aus total verfaultem Fleisch nicht besonders in der Wirkung von den Extrakten aus frischem Fleisch unterscheiden. Excitierende und paralysierende Substanzen scheinen dabei ihre Wirkung gegenseitig aufzuheben. Zu 3): Extrakte aus verschieden altem Fleisch verhalten sich im allgemeinen wie Extrakte aus frischem Fleisch. Je älter aber das Fleisch, desto eher scheint die Tonussenkung dauernd zu sein, und um so häufiger beobachtet man eine Verstärkung der Kontraktionen. Zu 4): Die Wirkung von Ex-

trakten aus Fleisch, das sterilisiert und nachträglich infiziert wurde, besteht: bei B. paratyphus B, enteritidis Gärtner, coli commune, Staphylokokken und Proteus nach der initialen auf Kosten des reinen Fleischextraktes zu setzenden Aenderung in einer Tonusabnahme, sowie Abnahme der Kontraktionen und schließlicher vollständiger Lähmung des Darmes.

Im Gegensatz hierzu tritt beim B. subtilis-Fleischextrakt nie Tonussenkung und Aufhören der Kontraktionen ein, sondern die Spannung bleibt übernormal und die Kontraktionen sind in der Regel verstärkt. Diese Wirkungen sind beim Nagetierdarm — Ratte — und beim Fleischfresserdarm — Hund — identisch.

Nachdem Seeberger in dem Versuch 4) die Wirkung der Extrakte von Fleisch studiert hatte, das mit Bakterienreinkulturen infiziert war, untersuchte er weiter (natürliche Verhältnisse nachahmend) die Extraktwirkung auf Rattendarm von ungekochtem, akzidentell, polybakteriell infiziertem Fleisch, das in Ringerlösung 48 Stunden im Brutschrank gehalten wurde.

Bei 3 verschiedenen Versuchen derselben Anordnung wurden (wahrscheinlich entsprechend der Verschiedenartigkeit der Bakterienflora) 3 voneinander abweichende Kurven registriert. In allen Fällen lassen sich Aenderungen im Tonus und in den Kontraktionen nachweisen, die kaum auf die Fleischwirkung allein zurückzuführen sind. Im 1. Falle zeigt sich eine enorme Tonuszunahme mit nahezu völligem Aufhören der Kontraktionen; im 2. Falle wurde bleibende Tonussenkung, die aber Schwankungen unterworfen war, im dritten eine Spannungsabnahme mit nachheriger Tonussteigerung bis über die Norm beobachtet.

Zum Schluß ließ Seeberger Eiweißfäulnisprodukte, die durch Bakterientätigkeit entstehen, wie Phenol, Orthokresol, Kadaverin, Indol und Skatol in $2^1/_2$proz. Lösungen auf den überlebenden Darm einwirken. Alle setzten den Tonus des Darmes herab und sistierten die Kontraktionen, ausgenommen Kadaverin, bei dem der Tonussenkung eine Spannungszunahme folgte.

Die Versuche Seebergers zeigen, daß verschiedenartigste Bakterien, darunter Saprophyten, wie sie regelmäßig in guten und schlechten Fleischwaren und anderen Lebensmitteln gefunden werden, unter bestimmten Bedingungen Stoffe produzieren, welche auf den Darm eine bisweilen anreizende, im allgemeinen aber lähmende Wirkung ausüben.

Von einer ganz anderen Fragestellung ging Korentschewsky aus, der auf Veranlassung Metschnikoffs (7, 8) dessen Lehre von der gastrointestinalen Autointoxikation durch Tierversuche mit Bouillonkulturen von zwei Anaërobien: B. putrificus Bienstock und perfringens (phlegmonis emphysematosae Fränkel) zu stützen versucht hat. Diese Versuche behalten ihre Bedeutung, trotz der inzwischen erfolgten Feststellung Zeisslers, daß der Putrificus Bienstock eine Mischkultur von Putrificus verrucosus und B. amylobacter ist.

Korentschewsky wies in Ergänzung der Studien Metschnikoffs nach, daß von B. putrificus Bienstock und perfringens Giftstoffe in Bouillon gebildet werden, welche nicht nur bei intravenöser, sondern auch bei Zuführung per os und rectum auf die Versuchstiere schädigend bis tödlich einwirken können. Uns interessieren hier in erster Linie die per rectum und os angestellten Versuche, d. h. die Einwirkung der Giftstoffe auf den Körper vom Magen-Darmtraktus aus.

Für seine Untersuchungen per rectum wählte K. 5 Würfe junger Kaninchen, zusammen 30 Tiere. Die nähere Versuchsanordnung muß im Original nachgelesen werden. Er stellte fest:

1) Daß wiederholte rektale Injektionen von 20 g durch Chamberland-Filter filtrierter Putrificus- und Perfringens-Fleischbrühe von 25 Versuchskaninchen 10 zu töten vermochten, und zwar gingen 4 von den 10 mit Putrificus Bienst. und 6 von den 15 mit Perfringens behandelten Kaninchen ein. — 2) Daß im Blute einiger Versuchstiere spezifische Antikörper auftreten, die bei gesunden Tieren für Putrificus und Perfringens nicht nachgewiesen werden konnten, und zwar wurde Komplementablenkung festgestellt zweimal bei Kaninchen, die mit Filtraten von Putrificus-Bouillon, und 6mal bei solchen, die mit Perfringens-Bouillon behandelt waren. In zwei Fällen wurde nach Behandlung mit Putrificus-Bouillonfiltrat Agglutininbildung beobachtet. — 3) Daß bei den Versuchstieren sich die Vergiftungserscheinungen in mehr oder weniger andauernder Gewichtsabnahme oder im Zurückbleiben des Gewichts gegenüber den Kontrolltieren äußerten; die Mehrzahl der Tiere war dabei traurig, schlaff und lag viel.

Bei 3 von 10 Kaninchen wurden die dem Tod vorangegangenen Erscheinungen genau beobachtet. Etwa 5 Std. vor dem Tode begann bei einem Kaninchen Kräfteverfall der langsam stetig unter sehr charakteristischen Vergiftungserscheinungen zunahm. 2 andere Versuchstiere starben nach 7—8 Std. unter den Erscheinungen, wie sie nach intravenöser und intraperitonealer Injektion der Filtrate von Putrificus- und Perfringens-Bouillon auftraten (Dyspnoe, Schlaffheit, Parese der Extremitäten, bisweilen krampfhafte Zuckungen der Kopfmuskeln, nach einigen Std. klonisch-tonische Zuckungen, Uebergang der Extremitätenparese in Paralyse; während des Krampfanfalles Opisthotonus und häufiges Schreien der Tiere. Zwischen den Krampfanfällen blieb das Tier im Zustande von Parese oder Paralyse; Steigerung der Reflexe bis Prostration eintrat, in der die Tiere nach 3—5 Std. zugrunde gingen).

An Kontrolltieren wurde festgestellt, daß die Zuführung der gleichen Bouillonmenge ohne Bakteriengifte unter denselben Versuchsbedingungen die beobachteten Krankheitserscheinungen nicht bewirkte. Durch Zuführung von Putrificus- und Perfringens-Kulturen per os (Verfütterung an erwachsene Hunde) stellte Korentschewsky fest

1) progressive, bisweilen hohe Grade erreichende Gewichtsabnahme; 2) leicht ausgesprochene Anämie; 3) klinisch und pathologisch-anatomisch Nephritis; 4) Auftreten von Antikörpern in Blut (Agglutininen, Präzipitinen, Fixatoren).

K. findet durch seine Versuche die Annahme Metschnikoffs bestätigt, daß die Darmbakterien an sich die Quelle der Autointoxikation darstellen, gegen welche der Organismus mit allen ihm zu Gebote stehenden Mitteln kämpfen muß.

Die Versuche Seebergers und Korentschewskys zeigen augenscheinlich, daß die von ihnen benutzten Bakterienarten fähig sind, unter gewissen Bedingungen Giftstoffe zu produzieren, die auf den Magen-Darmkanal bzw. auf den Körper der Versuchstiere in bestimmter Weise einwirken.

Seeberger ahmt die Verhältnisse, wie sie bei Fleischwarenvergiftungen gefunden werden, ziemlich getreu nach, indem er seine Versuche nicht nur mit Fleisch in verschiedenem Zustand anstellt, sondern dasselbe auch mit denjenigen aëroben Bakterienarten infiziert, welche in Fleischwaren angetroffen werden (B. coli commune, Staphylokokken, Proteus, Subtilis, Paratyphus B und Enteritidis Gärtner).

Korentschewskis Arbeit bedeutet hierzu eine vortreffliche Ergänzung, indem er Anaërobier für seine Versuche benutzte (Putrificus Bienst. = Putrificus verrucosus + Amylobacter und den Fränkelschen Gasbazillus) und die Prüfung auf Giftbildung und -wirkung an lebenden Tieren vornahm.

Auf Grund der Versuche Seebergers ist es wahrscheinlich, daß allein schon gewöhnliche Aërobier in Lebensmitteln Giftstoffe bei Vorhandensein gewisser Wachstumsbedingungen entwickeln können.

die auf den Magen-Darmkanal im Sinne einer Tonus- und Kontraktionsverstärkung oder -abnahme einwirken. Durch diese Versuche scheinen diejenigen Nahrungsmittelvergiftungen erklärt, bei welchen nur aërob wachsende Bakterien wie Subtilis, Coli, Proteus, Kokken u. a. in den schuldigen Nahrungsmitteln nachgewiesen werden konnten.

Derartige Lebensmittelvergiftungen durch Einwirkung von Bakterien, die per os genossen an sich im allgemeinen apathogen sind, sind in der Literatur zahlreich zu finden. Proteus wird in den von Mayer (3) erfaßten Massenvergiftungen in 600 Fällen als Ursache angesprochen; er findet sich 4mal unter den von Kuppelmayr (1) zusammengestellten 18 Fällen. Baerthlein (9) berichtet über 2000 Fälle von Wurstvergiftungen durch Proteus im Anschluß an den Genuß von Blut- und Leberwurst, die in einer Korpsschlächterei im Felde hergestellt war. Bei dieser Massenerkrankung sind die charakteristischen äußeren Umstände bezüglich der Entstehung recht interessant. Es erkrankten nur Leute, welche die Wurst erst 2 Tage nach Fertigstellung gegessen hatten. In diesen 2 Tagen war die Wurst von der weit hinter der Front gelegenen Korpsschlächterei zur kämpfenden Truppe nach vorn gebracht worden, und zwar so, daß der Transport im Schutze der Dunkelheit nachts stattfand, während die Wurst tagsüber irgendwo in der Bahn oder in einem Proviantdepot lagerte bei einer sehr hohen Außentemperatur (heiße Sommertage), ohne jede Kühlmöglichkeit. Die Würste waren nur 30 Minuten gekocht. Nachträgliche Versuche lehrten, daß dieser Proteus erst durch 45 Minuten langes Kochen in der Wurst getötet wurde. Die Proteus-Bakterien fanden also in diesem sehr lehrreichen Falle bei günstiger Außentemperatur Zeit, während der 2 Tage der Heranschaffung zur Truppe Giftstoffe zu bilden, die leichte bis schwerste Magen-Darmstörungen bei 2000 Mann auslösten.

Dieudonné (10), Glücksmann (11), Schumburg (12), Silberschmidt (13), Saltykow (14), Pfuhl (15), Klineberger (16), Wesenberg (17), Levy (18) und Berg (19) veröffentlichen ebenfalls Nahrungsmittelvergiftungen, als deren Urheber eine Proteus-Art bezeichnet wird. In einem Fall (Silberschmidt) wurden chemisch Ptomaine in der Wurst festgestellt, nach deren Genuß die Erkrankungen aufgetreten waren.

Der von Meyerhof (20), Silberschmidt, Wesenberg, Levy, Pfuhl und Schumburg geführte Streit, ob in diesen Fällen eine Infektion oder Intoxikation vorlag, kann wohl nach den Arbeiten Metschnikoffs, Korentschewskis und Seebergers als dahin entschieden angenommen werden, daß das Primäre eine Intoxikation ist, daß sekundär indessen eine Infektion möglich ist auf dem Boden der schädigenden Einflüsse der Giftstoffe auf die Darmschleimhaut.

Wichels und Barner (21) haben neuerdings eine Fleischvergiftung beschrieben, an der 1925 209 Personen der Göttinger Vereinigten Kliniken erkrankten. In der Nacht nach der schädlichen Mittagsmahlzeit (Braten aus gemischtem Rind- und Schweinefleisch) traten Leibkoliken, Erbrechen, Durchfälle, nur in 2 Fällen erhöhte Temperaturen bis 38° auf, also das typische Bild einer Intoxikation. Am Tage darauf befanden sich die meisten Kranken, abgesehen von Obstipationen, wieder leidlich wohl. Aus dem übriggebliebenen Fleisch und der Tunke wurden Proteus- und Coli-Bakterien in gleichem Verhältnis gezüchtet. Der Stuhl wurde bedauerlicherweise erst am

Tage nach den Diarrhöen untersucht zu einer Zeit, wo er wegen bestehender Verstopfung nur mühsam durch Einläufe gewonnen werden konnte und die eigentlichen Urheber der Vergiftung bereits aus der Darmflora verschwunden sein konnten. Aus den so gewonnenen Stühlen (die Zahl derselben ist leider nicht angegeben) wurde auch ein Proteus-Stamm, der Gelatine nicht verflüssigte, gezüchtet. Der aus dem Fleisch isolierte Proteus wurde unter 54 Patientenseren von 43 agglutiniert in Verdünnungen von 1:15 bis 1:200 (in dieser Verdünnung nur 8mal). Der aus dem Stuhl isolierte Proteus wurde nur 2mal bis 1:15 agglutiniert. Wie wenig allein auf derartige Agglutinationen bei dem Fahnden nach dem Urheber der Vergiftung zu geben ist, werde ich noch darlegen. Daraus, daß der Fleisch-Proteus von mehr Patientenseren überhaupt und höher hinauf agglutiniert wurde als der Stuhl-Proteus, darf man nicht ohne weiteres schließen — wie die Verfasser es tun — daß der Fleisch-Proteus das schuldige Agens ist. Es wurde vor allem hier nicht berücksichtigt, daß auch Coli-Bakterien Nahrungsmittelvergiftungen bewirken können. Ein Versuch, auch diese durch Patientenseren zu agglutinieren, wird vermißt. Aber selbst wenn dieser Versuch negativ ausgefallen wäre, könnten noch immer auch die Coli-Stoffwechselgifte an der Erkrankung ursächlich beteiligt sein, ohne durch Einwirkung auf das Blut Agglutininbildung hervorgerufen zu haben. Wie wenig in diesem Fall mit einer solchen Einwirkung zu rechnen war, zeigt die fehlende akute Allgemeininfektion, zeigt die normale Temperatur der Kranken bis auf 2 Fälle. Andererseits kann sehr wohl der eine der Giftstoffbildner (z. B. der Proteus) durch einzelne Exemplare Agglutininbildung bewirkt haben. der andere (Coli) aber nicht.

Als Urheber von Lebensmittelintoxikationen sind in der Literatur auch andere Bakterien beschrieben. In der Kasuistik Kuppelmayrs (1) aus dem RGA erscheint z. B. Coli 2mal. Lebensmittelvergiftungen durch Coli oder coliähnliche Bakterien werden weiter erwähnt oder beschrieben von Jakobowitz und Kayser (22), Fischer (23), Haibe (24), Brieger und Kempner (25), Bürger (26), der auch auf B. proteus, prodigiosus, alcaligenes und Enterokokken als Urheber von Fleischvergiftungen hinweist; Moebius (27) zählt in seinem Bericht über Massenerkrankungen nach Genuß verdorbener Nahrungsmittel gleichfalls solche auf, die hervorgerufen wurden durch B. proteus, coli, faecalis alcaligenes, Subtilis-Arten und Enterokokken. Ridder (28) beschreibt einen Fall von Fleischvergiftung, bei dem aus dem Blut des erkrankten Mannes B. faecalis alcaligenes gezüchtet wurde, welches als Urheber der Vergiftung angesprochen wird. Dold (29) berichtet über einen Fall von Käsevergiftung, von der 5 Menschen 3—6 Std. nach Genuß betroffen wurden, die sich in Uebelkeit, Erbrechen, Leibschmerzen und Durchfall kundtat. Kulturell konnte aus dem Käse nur das B. acidi lactici gezüchtet werden, das indessen auch bei Kaninchen Magendarmstörungen nach Verfütterung hervorrief. Dieses Milchsäurebakterium wird hiernach für den Urheber der Käsevergiftung gehalten.

Auch die größte Zahl von sogenannten „Fleischvergiftungen" (durch Paratyphus-Gärtner-Gruppe) gehört zu den Vergiftungen und nicht zu den Infektionen, die bei weitem seltener vorkommen. Im Kolle-Wassermann (30) unterscheiden Uhlenhuth und Hübener bei der Besprechung des Paratyphus B ähnlich wie es auch Schottmüller

tut, 1) das typhusähnliche Bild durch Infektion, 2) das gastroenteritische Bild durch Toxinwirkung.

Sehen wir die Kasuistik der „Fleischvergiftungen" durch, so finden wir bei den meisten das gastroenteritische Bild im Vordergrunde der Erkrankungen stehen, finden also bei der Paratyphus-Gärtner-Gruppe häufiger eine Toxinwirkung als eine Infektion. Kritiklos wird häufig der Nachweis von B. paratyphus B in den Ausscheidungen zu den Krankheitserscheinungen in falsche Beziehungen gebracht. Da B. paratyphi B bei den verschiedenen Untersuchungen verschiedener Autoren im Körper gesunder Menschen in 1—16 Proz. nachgewiesen wurde, so ist durch Nachweis des Paratyphus B in den Ausscheidungen eines nach dem Genuß eines Nahrungsmittels Erkrankten noch nicht bewiesen, daß es sich um eine Paratyphuserkrankung handelt. Es braucht in solchem Fall das gefundene Bakterium Paratyphus B mit der Erkrankung in keinerlei Zusammenhang zu stehen. Ebenso darf aus dem Nachweise von Paratyphusbakterien in dem genossenen Nahrungsmittel nicht ohne weiteres gefolgert werden, daß die Nahrungsmittelvergiftung ein Paratyphus ist. Nach Glaser (31) ist der Nachweis von Paratyphusbakterien in völlig genußtauglichem Fleisch, auch geräucherten Fleisch- und Wurstwaren, erbracht. Auch Poppe (32) gibt zu, daß Angehörige der Paratyphusgruppe in unverdorbenem Fleisch vorkommen, wenn auch nicht in so großer Zahl als bisher angenommen wurde, und zwar soll es sich dann zumeist um das Bacterium suipestifer handeln, das für gewöhnlich nicht menschenpathogen zu sein scheint. Auf Grund dieser Tatsachen muß es Allgemeingut von Nahrungsmittelbegutachtern werden, nur dann eine Paratyphuserkrankung anzunehmen, wenn sowohl in der betreffenden Nahrungsmittelprobe als auch in den Ausscheidungen des Erkrankten dieselben Bakterienarten der Paratyphusgruppe gefunden sind und möglichst auch der Gruber-Widal bis in höhere Verdünnungen hinauf für Paratyphus positiv ist, eine Forderung, die nicht nur Uhlenhuth (76) für Paratyphuserkrankungen, sondern auch Jakobowitz und Kayser (22) ganz allgemein für alle bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen erheben. Handelte es sich um die reine Einwirkung hitzebeständiger Gifte der Paratyphus-Gärtner-Gruppe nach Genuß gekochten oder gebratenen infiziert gewesenen Fleisches, so werden die Vergiftungserscheinungen zusammen mit der Keimfreiheit bzw. Keimarmut des übergebliebenen zubereiteten Fleisches, der Tierversuch und Nachforschungen nach der Herkunft des Fleisches, gegebenenfalls bakteriologische Untersuchungen von Fleisch und Organen, die von dem geschlachteten Tier noch unzubereitet vorhanden sind, auf die Spur des schädlichen Agens führen.

Folgender kürzlich vom Tierarzt Dr. Leue-Oels (33) berichteter Fall möge die Forderung, mit der Diagnose Paratyphus vorsichtig zu sein, unterstreichen.

Im April 1925 erkrankten auf einem Gut 3 Personen nach dem Genuß von altem Schinken, der äußerlich schmierig war und süßlich roch. Die damit betraute Untersuchungsstelle eines Schlachthofes züchtete aus dem Schinken einen Paratyphusvertreter. Der Begutachter nimmt postmortale Infektion an, weil der Fleischbeschauer vor und nach dem Schlachten das Tier als gesund befunden hat und auch nach dem Genuß rohen Fleisches keine Erkrankungen aufgetreten sind. Als begünstigende Momente für die postmortale Infektion werden unsaubere Verarbeitung und unsachgemäße Aufbewahrung des Schinkens genannt, zumal auch die Rohwurst stark keimhaltig befunden wurde, ohne daß in ihr Paratyphuserreger nachgewiesen werden konnten. Das Krankheitsbild wurde beherrscht von Sehstörungen und Verstopfung.

Auf Grund seines bakteriologischen Schinkenbefundes gibt der betreffende Begutachter die Diagnose Paratyphus an die Aerzte aus. — Der Befund von Paratyphuserregern im Schinken berechtigt in diesem Fall m. E. nicht, die nach dem Genuß des Schinkens aufgetretenen Erkrankungen als Paratyphus schlechthin zu bezeichnen. Die schmierige Beschaffenheit des Schinkens und sein süßlicher Geruch sprechen dafür, daß hier wohl keine Paratyphuserkrankung, sondern eine Intoxikation vorlag, für die als Giftbildner wahrscheinlich Bakterien anzusprechen sind, welche den Zersetzungsprozeß beim Schinken verursacht haben, worunter natürlich auch Paratyphusbakterien sein konnten, ohne indessen vielleicht eine besondere Rolle für das Zustandekommen der Erkrankung zu spielen. Der Referent v. O. bemerkt zu diesem Fall, daß Verstopfung und Sehstörungen für Mitbeteiligung des Botulinus-Toxins sprechen. Dieser Gedanke liegt nahe; ich werde indessen später bei Besprechung meiner Untersuchungen einen Fall anführen, der es empfehlenswert erscheinen läßt, die Folgerung: Sehstörungen und Verstopfung, also Botulismus, nicht ohne bakterielle Untersuchung zu ziehen.

Wie schwer es ist, lediglich aus dem bakteriologischen Stuhlbefund auf die an der Giftbildung schuldigen Bakterien zu schließen, zeigt die Arbeit von Mandel (34), die sich mit der Untersuchung einer Nahrungsmittelvergiftung befaßt, welche 1912 bei 46 Soldaten eines Truppenteils nach Genuß von Schmorfisch aufgetreten ist. Dieser Schmorfisch stand zur Untersuchung nicht mehr zur Verfügung. Bei 33 Erkrankten wurde aus dem Stuhl das Bacterium proteus vulgare in Reinkultur gezüchtet. 10 Patientenseren agglutinierten den Sammlungs-Proteus bis 1:25. Im weiteren Verlauf der Stuhluntersuchungen fanden sich in einigen Fällen Vertreter der Paratyphusgruppe, die nicht eindeutig in die Gruppe A und B unterzubringen waren. Aus den Untersuchungen wird u. a. gefolgert:

1) Die Intoxikation war durch Proteus vulgaris bedingt. — 2) Durch die Vergiftung wurde die Darmflora mehrerer Kranker umgestimmt. Dadurch wurde Bakterien der Proteus- und Paratyphusgruppe die längere Ansiedlung im Darmkanal ermöglicht usw.

Bei dem hohen Satz von 75 Proz. Proteus-Befunden im Stuhl scheint Mandel berechtigt, in diesem Falle dem Proteus eine kausale Bedeutung an den Vergiftungen, dagegen den später aufgetretenen Paratyphusbakterien nur eine sekundäre Rolle zuzuschreiben. Belanglos ist m. E. die Agglutination des Sammlungs-Proteus. Derartige und erheblich höhere Agglutinationstiter finden sich auch bei Sekundärinfektionen mit Proteus, bei denen dieser in keinem kausalen Zusammenhang zu der Nahrungsmittelvergiftung steht. Wir kennen aus der Zusammenstellung von Zeiß (35) solche Fälle von Sekundärinfektionen mit Proteus von der beschädigten Darmschleimhaut aus. Bischoff und Brekenfeld (36) haben kürzlich einen weiteren Fall veröffentlicht. Wenn einmal die Darmschleimhaut durch ein Gift geschädigt ist (in der Krankengeschichte Mandels werden u. a. Erbrechen, Durchfälle, Leibschmerzen angeführt) und im Darm Proteus-Bakterien als Saprophyten vorhanden sind, ist eine Sekundärinfektion und damit die Bildung von Agglutininen gegen Proteus leicht denkbar. So können im Stuhl der Erkrankten Proteus-Bakterien, im Blut Agglutinine gegen Proteus gefunden werden, ohne daß der Proteus primär irgend etwas mit dem Zustandekommen der

Krankheit zu tun hat. Aehnlich verhält es sich mit dem vereinzelten Auftreten von Paratyphusbakterien im Stuhl der Erkrankten. Es wurde früher schon das Vorkommen von Paratyphusbakterien in 1—16 Proz. gesunder Menschen erwähnt. In diesem Verhältnis werden sie sich auch bei Massenvergiftungen vorfinden.

Ein Musterbeispiel für eine toxische Nahrungsmittelvergiftung, an der Coli- und Paratyphusbakterien beteiligt waren, beschreibt Rolly (37).

250 Angestellte eines Warenhauses erkrankten nach dem Genuß von Bohnenkonserven mit Leibschmerzen, Frösteln, Uebelkeit, Aufstoßen, Brechreiz, Kopfschmerz, Schwindel und Durchfällen, vereinzelt auch Erbrechen. Genesung in 2—4 Tagen. Aus den übriggebliebenen Bohnen, die auf 80° kurze Zeit erhitzt waren, wurde das B. coli und B. paratyphus B in Reinkultur gezüchtet und zwar kamen auf ein Paratyphusbakterium 3 Coli-Vertreter. In den Ausscheidungen der Erkrankten wurde Paratyphus B nicht nachgewiesen.

Rolly folgert mit Recht, daß es sich hier um die Wirkung giftiger hitzebeständiger Bakterienstoffwechselprodukte gehandelt hat, daß eine Infektionswirkung des Paratyphus B schon deshalb kaum anzunehmen ist, weil die meisten Bakterien durch die Erhitzung abgetötet sein mußten. Bis zur Probeentnahme hatten die wenigen Ueberlebenden Zeit gehabt, sich nach Erkalten der Bohnen wieder zu vermehren.

Da das B. coli nach unseren bisherigen Kenntnissen ebenso wie auch das Bakterium Paratyphus B Nahrungsmittelvergiftungen verursachen kann, wäre es falsch, im Falle Rolly von einer Paratyphusepidemie, bei der ohne weiteres an Infektionen gedacht wird, zu sprechen. Es handelte sich vielmehr tatsächlich um eine Nahrungsmittel-Massenvergiftung, verursacht durch Einzel- oder Sammelwirkung der vom Paratyphus B- bzw. Coli-Bakterium gebildeten Giftstoffe.

Oster (38) hat neuerdings eine Arbeit veröffentlicht, in der er folgende Unterschiede im Gruber-Widal von Paratyphuskranken der ersten Krankheitswoche bei der gastroenteritischen Form (Vergiftung) und dem Paratyphus B abdominalis (infektiöse Form) angibt: Von 28 Fällen der 1. Gruppe (Vergiftung) fehlte in 25 Fällen gleich 89,3 Proz. jegliche Bildung von Agglutination, während diese von 50 Untersuchungen der zweiten Form (Infektion) nur 24mal, d. h. in 48 Proz. ausblieb. Wir sehen auch aus dieser Feststellung, wie verschieden von einander beide Formen sind. Bei der toxischen Form ist die Giftwirkung zunächst klinisch im großen und ganzen dieselbe, ob die Giftbildung in dem betreffenden Lebensmittel durch Proteus, B. paratyphus, B. putrificus oder andere Bakterien bewirkt wurde. Erst auf Grund der Darmschädigungen durch die Giftstoffe dringen z. B. bei der Paratyphusvergiftung Paratyphusbakterien sekundär in die Blutbahn ein und führen nachträglich auch zur Infektion und zur Agglutininbildung.

Kurz streifen will ich den Nebenbefund von B. enteritidis Gärtner bei Darmerkrankungen. Bofinger (39) berichtet 1912 über Darmkatarrhe und Paratyphusinfektionen bei einem württembergischen Truppenkontingent nach dem Genuß frischer Leberwurst, Schwartenmagen usw. Es wird von einer hohen Zahl von Darmkatarrhen und Brechdurchfällen gesprochen. Von 160 fraglichen Stuhlproben enthielten 74 Paratyphusbakterien, einer den Enteritidis Gärtner. Wir haben hier nach der Beschreibung in der Hauptsache das Bild einer Lebensmittelvergiftung vor uns. Sonderbar ist der eine Fall mit B. enteritidis Gärtner im Stuhl. Es scheint sich dabei fraglos um einen Mann

zu handeln, der ein Dauerausscheider von Enteritidis Gärtner war, ohne je seine Umgebung gefährdet zu haben. Die Annahme, es könnte dieses Bakterium mit der Wurst usw. in den Darm gelangt sein, erscheint bei diesem Einzelfall sehr unwahrscheinlich. Der Nebenbefund des Gärtner-Bakteriums scheint selten zu sein. Es ist dieses der einzige Fall dieser Art, der mir in der Literatur begegnet ist. Nach Uhlenhuth und Hübener (30) fand ihn noch Katte im Stuhl eines körperlich gesunden Geisteskranken und Jeffreys 2mal in der Harnblase bei Untersuchung von 60 Kindern. Man muß hiernach von diesem Krankheitserreger dasselbe annehmen, was vom B. paratyphus B gilt, daß nämlich ein mit ihm behafteter Dauerausschneider außerhalb des Lebensmittelgewerbes für die Umwelt keine oder nur eine geringe Gefahr darstellt.

In diesem Zusammenhang ist auch ein von Günther (40) beschriebener Fall recht interessant.

Es handelt sich um eine Fleischvergiftung, von der 26 Familien betroffen wurden. Sie hatten alle von demselben Schlachter Schweinefleisch, Wurst und Blut gekauft und erkrankten nach deren Genuß an Leibschmerzen, Erbrechen, Durchfall, großer Mattigkeit und Schwäche. Ein 47jähriger Knecht, der am 24. 5. morgens von der Wurst, mittags Blut in gebratenem und Fleisch in gekochtem Zustand gegessen hatte, erkrankte in der Nacht und starb am 25. 5. mittags. Die gerichtsärztliche Sektion, die am 27. 5. stattfand, konnte eine Todesursache nicht feststellen. Anhaltspunkte dafür, daß die Nahrungsmittel von kranken Tieren stammten, lagen nicht vor.

Die bakteriologische Untersuchung hatte folgendes Ergebnis: Aus der Leber und Milz des verstorbenen Knechtes wurde das Bacterium enteritidis Gärtner isoliert, aus Magen und Herzfleisch der Leiche das B. coli commune; aus erbrochenem Mageninhalt und Urin des Knechtes, sowie aus Fleisch, das in der Wohnung des Verstorbenen gefunden war, konnten Proteusarten gezüchtet werden. In der fraglichen Leber- und Blutwurst des betreffenden Schlachters konnten nur apathogene Kokkenarten nachgewiesen werden, dagegen fand sich in der Knackwurst ein Bacterium proteus (Zopfii). Auf Grund dieser Befunde wurde die Erkrankung des Knechtes auf eine Infektion mit B. enterititis Gärtner zurückgeführt. Ich halte diese Schlußfolgerung für gewagt. Es handelt sich nach Art der Erkrankungen offensichtlich um eine Massenvergiftung. Wäre das Gärtner-Bakterium der Urheber derselben, so wäre es wahrscheinlich auch in dem in der Wohnung des Knechtes noch vorhanden gewesenen Stück Fleisch, sowie in der übrig gebliebenen Wurst des Schlachters nachzuweisen gewesen. Es liegt meines Erachtens näher, diese Fleischvergiftung auf die Einwirkung des Proteus zurückzuführen, da Proteus sowohl im Erbrochenen und Urin des Knechtes, als auch in dem in der Wohnung gefundenen Fleisch und in der Knackwurst des Schlachters nachgewiesen wurde. Nach meinen Untersuchungen kommt der Proteus selten in einwandfreien Lebensmitteln vor. Sein Vorkommen in ihnen, wie im Urin und Mageninhalt ist immerhin etwas Außerordentliches. Die Deutung des Befundes in diesem Falle hätte nach meinem Dafürhalten folgendermaßen ausfallen müssen: „Der Nachweis von Proteusarten in Fleisch und Wurst einerseits und Urin und Mageninhalt des Verstorbenen andererseits lassen es zusammen mit der klinischen Tatsache einer Massenintoxikation als wahrscheinlich erscheinen, daß der Knecht an einer durch B. proteus bedingten Lebensmittelvergiftung gestorben ist. Für das Vorliegen einer Vergiftung spricht auch der sehr frühe

Eintritt des Todes schon ca. 28 Std. nach dem erstmaligen Genuß von Wurst am 24. 5. morgens und die Tatsache, daß gerade der Verstorbene sehr viel von den gesundheitsschädlichen Nahrungsmitteln gegessen hat (morgens Wurst, mittags Blut und Fleisch). Der Befund des B. enteritidis Gärtner kann so erklärt werden, daß dieses Bakterium sich entweder bereits vor der Vergiftung im Darm des Knechtes befunden hat (Bazillenträger) und sekundär während der Vergiftung vom entzündeten Darm aus in die Blutbahn und somit in Milz und Leber eingedrungen ist, oder daß im Fleisch oder Blut des geschlachteten Tieres das Gärtner-Bakterium vereinzelt vorhanden war, mit ihnen in den Darm des Knechtes kam und von dort in die Blutbahn. Auch in diesem letzten Falle kommt das Gärtner-Bakterium für die Massenvergiftung kausal deshalb schwerlich in Frage, weil es in den nachgebliebenen Fleisch- und Wurstwaren nicht nachgewiesen werden konnte, wohl aber andere vegetative Bakterienformen." — In solchen Fällen von Nahrungsmittelvergiftungen ist zur Klärung der Ursache die Untersuchung daraufhin von Bedeutung, ob die in Organen oder Ausscheidungen gefundenen Bakterien besonders die der Paratyphus Gärtner-Gruppe von dem Blutserum erkrankter Personen agglutiniert werden. Wäre im obigen Falle der Versuch gemacht worden, den Gärtner-Stamm aus Milz und Leber und den Proteus-Stamm aus dem Urin des Verstorbenen mit dem Blutserum von überlebenden Erkrankten und aus der Leiche des verstorbenen Knechtes zu agglutinieren, hätte sich je nach dem Ausfall der Agglutination der Befund von B. Gärtner und Proteus ganz anders verwerten lassen.

Ist es hiernach klar, daß die Diagnose Paratyphusinfektion bei Nichterschöpfen aller Untersuchungsmöglichkeiten leicht zu Unrecht gestellt wird, so kann dasselbe noch leichter bezüglich des Botulismus festgestellt werden. Viele Aerzte halten die Diagnose Botulismus für berechtigt, wenn bei Lebensmittelvergiftungen neben anderen Symptomen Sehstörungen und Verstopfungen auftreten. Daß auch durch die Tätigkeit anderer Bakterien Gifte entstehen, welche ein dem Botulismus ähnliches, ja gleiches Krankheitsbild hervorrufen können, wird vielfach nicht beachtet. Es sei hier auf Bd. V des Handbuches der Hygiene von Rubner, v. Gruber, Ficker (41) verwiesen, wo von Kallert und Standfuß als Erscheinungen bei „Fleischvergiftung" neben Gastroenteritis angeführt werden: Kopfschmerzen, Schwindel, Neuralgie, ja selbst Delirien, tonisch-klonische Krämpfe der Gliedmaßen, sowie Lähmungen der Schlund-, Augen- und Extremitätenmuskulatur. Als Urheber solcher Fleischvergiftungen werden Bakterien der Paratyphusgruppe, sowie Proteus und Coli angeführt. Im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann schreibt van Ermengem, der Entdecker des Bac. botulinus:

„Wir geben aber zu, daß gewisse Symptome des Botulismus, namentlich diejenigen seitens der Augen, auch bei bestimmten Formen von Fleischvergiftung angetroffen werden können, welche einen anderen Ursprung (nicht Bacillus botulinus) und ein anderes Symptomenbild aufweisen."

Hübener (53) zählt als Störungen im Gebiet der Nervenbahnen bei Paratyphusintoxikationen u. a. auf: Lähmungen der Schlund-, Augen- und Extremitätenmuskulatur. Wilbur (42) beobachtete eine Lebensmittelvergiftung bei 12 Personen, die nach dem Genuß von Salat aus konservierten grünen Bohnen erkrankt waren. Klinisch wurde die Erkrankung als Botulismus angesprochen. Bakteriologisch konnte diese

Diagnose nicht gestützt werden, da die Züchtung des Bacillus botulinus aus den Bohnen nicht gelang, wohl aber die eines anderen Anaërobiers, der anscheinend nicht näher bestimmt wurde.

Ich selbst kann folgenden Fall hinzufügen:

In die Rostocker Klinik wurde am 13. 1. 1925 ein 38jähriger Mann eingeliefert, der am Donnerstag nach Genuß selbstgemachter Rotwurst an starken Magenschmerzen erkrankte. Am Freitag bestand Verstopfung; er sah doppelt und wie durch einen Schleier. Sonnabend stellte sich Trockenheit in Mund und Rachen und Erbrechen ein. Montag suchte Patient die Augenklinik auf und erbrach dort übelriechende, gelbbraune, flüssige Massen. Er vermochte nun nicht mehr zu schlucken und wurde wegen Wurstvergiftung (Botulismus) in die medizinische Klinik aufgenommen. Objektiv konnte u. a. folgender Befund erhoben werden:

Augen: Pupillen weit und starr; keine Licht- und Konvergenzreaktionen. Rechts leichte Ptosis. — Abdomen: Im ganzen hart gespannt; gefüllte Darmschlingen fühlbar, keine Darmsteifung. Druckschmerz in der Mittellinie zwischen Nabel und Schwertfortsatz. — Rachen: Schleimhaut gerötet, sehr trocken; Gaumenbögen heben sich gut. — Zunge: trocken, belegt, rissig; starker fötor ex ore; starke Schluckbeschwerden. — Am 3. 2. 1925 wurde der Mann geheilt entlassen.

Die fragliche Wurst, eine dicke Rotwurst, wurde dem Hygienischen Institut Rostock zur Untersuchung übergeben. Aus verschiedenen Teilen der Wurst wurde Material zur aëroben und anaëroben Bebrütung entnommen. Anaërobier, zumal der Botulinus, ließen sich nicht nachweisen, dagegen das Bacterium proteus vulgare und der Bacillus subtilis. Da ich mir bewußt bin, nichts unterlassen zu haben, um einen etwa in der Wurst enthaltenen Bacillus botulinus herauszufinden, halte ich es für wahrscheinlich, daß das B. proteus in diesem Falle die botulismusähnliche Vergiftung verursacht hat. Denkbar ist es natürlich, daß sich nur in dem bereits verzehrten Teil der Wurst ein Botulinus-Herd befand, während der andere Teil von diesem Bazillus nicht befallen war, und daß der Proteus in diesem einen Nebenbefund darstellt. Bei der anerkannten Gefährlichkeit des Proteus als Lebensmittelvergifter scheint mir dieser Gedankengang indessen in diesem Falle weit hergeholt.

Wir sehen aus vorstehender kurzen Zusammenfassung von Literaturauszügen und Krankengeschichten, wie nahe verwandt die Stoffwechselgifte des Bacillus botulinus denen des Proteus, Bacterium paratyphus usw. sein können; die durch sie hervorgerufenen Krankheitsbilder können sehr ähnlich sein. Diese Tatsache scheint mir für die Eingruppierung des Botulismus in die Lebensmittelvergiftungen von besonderer Bedeutung zu sein.

Die Zahl derjenigen Autoren, welche Lebensmittelvergiftungen auf das Vorhandensein von Giftstoffen zurückführen, welche durch die Tätigkeit von mannigfachen Bakterienarten entstehen, ist groß: Vaughan und Perkins (43) führen eine Käse- und Eiscremevergiftung, die 62 Personen betraf, auf die Wirkung von „Tyrotoxikon" zurück. Bakteriologisch war ein coliähnliches Bakterium gezüchtet worden. Das Ptomain „Tyrotoxikon" war bereits 1886 erstmalig von Vaughan (44) aus Speiseeis und Milch isoliert und in Beziehung zur Cholera infantum gebracht worden. Brieger und Kempner (25) isolierten gelegentlich zweier Leberpasteten-Vergiftungen das 1. Mal ein B. coli, das 2. Mal eine Gärtnerart und stellten von beiden Stämmen quantitativ das wirksame Prinzip dar; die Giftbildung beider Bakterien im Reagensglas war indessen so gering, daß sie der Meinung sind, „daß mangels der spezifischen Wirkung der verschiedensten bei Fleischvergiftungen gefundenen Bakterium-Coliarten diese als solche mit der Vergiftung über-

haupt nichts zu tun haben, sondern daß es sich hierbei um giftige Umsetzungsprodukte der Eiweiß-Substanzen handelt, vermittelt durch bisher noch unbekannte Bakterien."

Mit der bakteriellen Giftbildung infolge Zersetzung von Gemüsekonserven befassen sich Schneidemühl (45) und Gutekunst (46), letzterer unter eingehender Würdigung der Massenvergiftungen in Darmstadt und Leipzig durch Bohnenkonserven. Ihm ist gerichtsmedizinisch von Interesse, daß durch die Untersuchungen klargestellt ist, „daß es sich nicht um eine direkte Infektion durch Bakterien handelt, sondern um eine Vergiftung durch die Toxinbildung von Seiten verschiedener Bakterien, über deren Spezies und biologische Eigenschaften die wissenschaftlichen Forschungen bis jetzt noch zu keinem einschlägigen Resultat gelangt sind."

In einer von Jakobsen (47) mitgeteilten Massenvergiftung nach Genuß geräucherter und gekochter Knackwurst ergab die bakteriologische und chemische Untersuchung, daß wahrscheinlich Ptomaine oder Bakterientoxine die Erkrankungen (akuter Magendarmkatarrh) verursacht haben.

Silberschmidt (48) beschreibt eine Massenvergiftung nach Brotgenuß, gekennzeichnet durch akute Magendarmerscheinungen, Erbrechen, Durchfall, Kopf- und Leibschmerzen, von der 190 Personen betroffen wurden. Während Ratten, Mäuse und Meerschweinchen nach Genuß des Brotes gesund blieben, erkrankten Hunde und Katzen. Silberschmidt vermutet, daß toxische durch Gärung entstandene Substanzen an den Erkrankungen die Schuld tragen.

Kühl (49) führt in einer kritischen Würdigung von Käsevergiftungen das Ausbleiben einer Wirkung eines für den Menschen giftig gewesenen Käses nach Verfüttern an Maus und Hund auf das Fehlen fertig gebildeter Gifte zurück.

Maculey (50) veröffentlicht eine Vergiftung, die auf 126 Personen nach Genuß kanadischen Käses aus demselben Geschäft ausgedehnt war. Sie erkrankten innerhalb weniger Stunden an Bauchkoliken mit Durchfällen, teilweise Erbrechen und Schwächezustände. Die chemische und bakteriologische Untersuchung des äußerlich normal aussehenden Käses ergab keine Anhaltspunkte für ein schädliches Agens. Durch Verfüttern des Käses wurden Mäuse an den hinteren Extremitäten gelähmt, zwei starben. Auf Grund der Untersuchungen wird die Vergiftung auf die Wirkung von Toxinen, nicht auf eine Infektion zurückgeführt.

Sammet (51) nimmt als Ursache von Vergiftungen durch Essigkonservenfische Toxinbildungen in den Fischen infolge Zersetzung vor dem Konservieren an.

Weikard (52) beschreibt eine Familienvergiftung nach Puddinggenuß (Brechdurchfall usw.). In dem Puddingrest konnte ein Ptomain nachgewiesen werden, welches Meerschweinchen in einer Viertelstunde unter Lähmungserscheinungen tötete.

Erwähnt sei schließlich die bedeutsame Arbeit von Hübener (53) über bakterielle Nahrungsmittelvergiftungen. Wenngleich er einerseits glaubt, daß der größte Teil aller bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen nichts anderes als ein Paratyphus ist, was für die bekannt werdenden Massenvergiftungen wohl zutrifft, stimmt er andererseits, wie auch Trautmann (54), zu, daß die bei Cholera nostras auftretenden stürmischen akuten Erscheinungen von Seiten des Magendarmtraktus „durch die gleichzeitig mit den Erregern von ihnen und aus dem Fleisch

gebildeten giftigen Stoffwechselprodukte bedingt sind.“ An anderer Stelle bestreitet er nicht die Möglichkeit, daß Fleisch post mortem ohne die spezifischen Fleischvergiftungsbakterien eine gesundheitsschädliche Beschaffenheit infolge Zersetzung mit den gewöhnlichen Fäulnisbakterien annehmen kann. Zu dieser Einstellung zwingen auch ihn in erster Linie die zahlreichen Nahrungsmittelvergiftungen, bei denen Angehörige der Paratyphus-Coli-Gruppe nicht gefunden werden konnten. Er selbst führt zahlreiche solche Fälle an. Bei der Besprechung der Käsevergiftungen ist der Vorschlag Hübeners besonders mit Bezug auf meine eigenen Untersuchungen interessant, vor allen Dingen nach anaëroben Bakterien zu fahnden.

Ich beende nunmehr den Rundgang durch die Literatur der Nahrungsmittelvergiftungen. Korenschewski und Seeberger haben die Giftigkeit und Wirkungsart der Stoffwechselprodukte von Bakterien, die zur Flora der Nahrungsmittel gehören, durch Laboratoriumsversuche wahrscheinlich gemacht. Die von mir angeführten Literaturauszüge — Krankheitserscheinungen wie kritische Würdigung der einzelnen Vergiftungen durch die betreffenden Autoren — zeigen in Ergänzung jener Versuche, daß die Mehrzahl der Lebensmittelvergiftungen wirkliche Vergiftungen und keine Infektionen sind. Die wirksamen Gifte hierbei als Stoffwechselgifte zusammenzufassen, halte ich zunächst für das nächstliegendste. Eine wie wichtige Rolle nämlich der Stoffwechsel der Bakterien bei den Vergiftungen spielt, ersehen wir auch daraus, daß gewisse Anforderungen an Nährboden und Temperatur erfüllt sein müssen, damit die Giftbildung als Ausdruck günstiger Lebensbedingungen zustande kommt. Ob diese Gifte Endo- oder Ektotoxine, Ptomaine oder Tyrotoxine oder ein Gemisch irgendwelcher Gifte sind, bleibt für die Beantwortung der Frage, ob wir es mit einer Vergiftung oder Infektion zu tun haben, weniger wichtig.

Wenden wir uns nun der Frage nach der Einteilung der Nahrungsmittelvergiftungen zu, so ist nicht aufrecht zu erhalten die Gliederung Schottmüllers, der nach Hübener (53) die Fleischvergiftung in eine bestimmte Gruppe der Nahrungsmittelvergiftungen weist, die wiederum der großen Gruppe der Paratyphusinfektion angehören sollen. Vergiftung und Infektion sind in ätiologischer, klinischer, therapeutischer und epidemiologischer Hinsicht so verschieden, daß eine strenge Trennung beider Krankheitsformen auch im Bereich der Nahrungsmittelkrankheiten dringend notwendig ist. So trifft auch der neueste Vorschlag Schömmels (55), nach Vorgang von Möller-Rievel die Erkrankungen nach Aufnahme von Nahrungsmitteln als bakterielle Nahrungsmittelvergiftungen zu bezeichnen, und dabei die Fäulnis-, die Paratyphus- und die Botulinusvergiftungen zu unterscheiden, nicht den Kern der Sache. 1. gehören zu den Erkrankungen nach Aufnahme von Nahrungsmitteln nicht nur Vergiftungen, sondern auch Infektionen, 2. darf man die Vergiftungen durch Proteus, Coli usw. keineswegs in den Sammelbegriff Fäulnisvergiftungen einbeziehen, sie gehören vielmehr, wie wir gesehen haben, in die Gruppe der Vergiftungserreger wie Bacterium paratyphus und botulinus. 3. ist der Sammelbegriff „Fäulnisvergiftungen“ geeignet, Verwirrung anzurichten und Unklarheiten verdeckt zu lassen. Vergiftungen durch „faule“ Nahrungsmittel kommen kaum vor. Die Bildung von giftigen Eiweißabbauprodukten ist aber nicht immer gleichbedeutend mit Fäulnis.

Richtig scheint es mir, die Nahrungsmittelkrankheiten nur ein-

zuteilen in Nahrungsmittelinfektionen und -vergiftungen. Bei jenen wären alle Infektionskrankheiten zu besprechen, die durch Nahrungsmittel übertragen werden können, wie Typhus, Paratyphus abdominalis, Tuberkulose u. a., während bei den Vergiftungen alle Erkrankungen nach Genuß von Nahrungsmitteln zu nennen sind, in denen durch Bakterientätigkeit giftige Stoffwechselprodukte irgendwelcher Art entstanden sind, denen die Eigenschaft zukommt, schädigend auf den Körper nach Aufnahme per os einzuwirken; hierzu gehören der Botulismus, die Gastroenteritis-paratyphosa und wohl die meisten derjenigen Nahrungsmittelerkrankungen, bei denen eine Infektion oder ein Infektionserreger weder klinisch noch bakteriologisch festgestellt werden konnte. Zu vervollständigen wäre die Einteilung durch den Hinweis auf das Vorkommen von gleichzeitiger Intoxikation und Infektion, und zwar entsteht diese Mischform meistens dadurch, daß, wie schon erwähnt, von der durch die Gifte geschädigten Darmwand aus Bakterien in die Blutbahn eindringen. Diese Bakterien können dieselben sein wie die an der Bildung der giftigen Stoffwechselprodukte schuldigen.

Die Einteilung in Fleisch-, Käse-, Mehlspeise-, Konservenvergiftungen ist hiernach überflüssig; es wird sich immer nur um eine Infektion, Vergiftung oder beides handeln, und das ursächliche Agens — Infektionserreger oder giftiges Stoffwechselprodukt — ist das nämliche, ob es sich um eine Fleisch-, Wurst-, Mehlspeisen-, Vanille-, Konserven- oder Käsevergiftung handelt. Die für Paratyphuserkrankungen so volkstümlich gewordene Bezeichnung „Fleischvergiftung“ kann im Rahmen der skizzierten Einteilung bestehen bleiben für den tatsächlichen Intoxikationsparatyphus nach Fleischgenuß. Den reinen Paratyphus abdominalis (infektiöse Form) den Vergiftungen zuzurechnen, ist ein Widersinn; man muß schon bei dieser Erkrankung stets von einer Paratyphusinfektion sprechen und den Ausdruck Fleischvergiftung für diese Form meiden.

Den Botulismus seiner Sonderstellung, die ihm bisher eingeräumt wurde, zu berauben, mag manchem schwer fallen. Wir haben indessen gesehen, wie auch die giftigen Stoffwechselprodukte, z. B. des Paratyphus- und Proteusbakteriums, das Bild des Botulismus hervorrufen können, als Ausdruck für den auch dem Botulinustoxin eigenen neurotropen Charakter dieser Gifte.

Es ist gleichfalls nicht zweckmäßig, die Nahrungsmittelvergiftungen einzuteilen nach der Art der wirksamen Gifte, weil wir auf Grund unserer jetzigen Kenntnisse beispielsweise nicht sagen können, hier hört die Wirkung der Ektotoxine auf und da fängt die der Eiweißabbauprodukte an. Vielmehr ist wahrscheinlich häufig die Bildung beider in den Nahrungsmitteln so eng miteinander verbunden, daß es schon aus rein praktischen Gründen geboten ist, nur von bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen zu sprechen, damit alle Vergiftungen zusammenfassend, welche durch die Lebenstätigkeit von in Nahrungsmitteln befindlichen Bakterien überhaupt entstehen.

Welche Bakterienarten kommen nun in Nahrungsmitteln vor? Eine befriedigende Antwort erhält man auf diese Frage aus der Literatur nicht. Auch das Handbuch der Fleischbeschau von v. Ostertag (56) und der 3. Bd. des Handbuches der Nahrungsmitteluntersuchungen von Beythien, Hartwich, Klimmer (57), die die Krankheitserreger erschöpfend bringen, sagen über die normale Bakterienflora der Nahrungsmittel besonders auch die der Wurstwaren wenig.

Maurell (58) (59) fand bei Untersuchungen im Inneren von Pasteten und Schlackwürsten aus verschiedenen Fleisch- und Delikatessgeschäften in Toulouse stets nur verschiedene Staphylokokkenarten, in Cervelat- und Bratwürsten außerdem noch das B. coli. Bornand (60) wies in 11 Cervelat- und 9 Bratwürsten folgende Keime nach: B. coli in 77,3 Proz., B. proteus in 27,3 Proz., ferner Bac. mesentericus und subtilis, Micrococcus candicans, Streptokokken, Sarcine u. a. W. Müller (61) züchtete aus dem Fleisch notgeschlachteter oder kranker Tiere in 46 Proz. Bakterien und zwar: B. coli, Anaërobier, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus albus und B. lactis aërogenes, keine Fleischvergifter. Conradi (62) berichtet über den Keimgehalt normaler Organe von Schlachttieren (Rinder, Kühe, Kälber, Schweine). Von 162 steril entnommenen Proben wurden 72 als keimhaltig festgestellt und zwar die Leber in $^2/_3$, Muskel und Nieren in $^1/_3$ der Fälle. Bei den 72 positiven Befunden handelte es sich 30mal um anaërobe Arten. Lange und Poppe (63) untersuchten frisches vom Schlachter bezogenes Rind- und Schweinefleisch u. a. auf ihren Bakteriengehalt. Im Rindfleisch wurden auf der Oberfläche und in der Tiefe Staphylococcus albus, aureus, und Bac. subtilis, im Schweinefleisch auf der Oberfläche ein hämolytischer Streptococcus, in der Tiefe der Proteus Zenkeri festgestellt. Diese Autoren fanden als Fäulniserreger verschiedene Kokken- und Proteus-Arten, seltener Coli-Bakterien und Heubazillen. Anaërobe, besonders sporenbildende Keime konnten konnten sie nicht nachweisen. Im Gegensatz hierzu spielen bei der Fäulnis nach Salus und Bienstock (56) die Anaërobier die Hauptrolle. Salus führt als Obligat anaërobe Fäulnisbildner an: Bac. sarkemphysemat. (Fränkels Gazbazillus oder Bac. perfringens), Bac. oedematis maligni, Putrificus u. a. Nach Heine und Würcker (56) sowie Loris-Melikow (64) verursacht der Putrificus die stärkste Fäulnis. Nach diesem Forscher folgen in der Stärke der Fäulniswirkung der Bac. sporogenes Metschnikoff und perfringens. Auch mir scheint es auf Grund meiner Untersuchung ratsam, besonders die Bedeutung des Fränkelschen Gasbazillus (Perfringens) für die Zersetzung von Nahrungsmitteln nicht zu unterschätzen.

Vielfach sind Konserven auf ihren Bakteriengehalt und die Ursache des Verderbens hin untersucht worden. Sammet (51) fand bei Heringen in Essig und Aal in Gelee als Erreger von Bombage nur Essigsäurebakterien, da sich andere Bakterien bei einem Essiggehalt von 1—3 Proz. nicht vermehren. S. hält die Essigsäurebakterien deshalb für die Urheber der Bombage. Die Frage, wie weit sich andere als Essigsäurebakterien in Essiglösung entwickeln können, habe ich für die bei den am häufigsten in verdorbenen Nahrungsitteln gefundenen Anaërobieren, Putrificus verrucosus und Fränkelschen Gasbazillus, nachgeprüft und die Angabe Sammets bestätigt gefunden, wobei ich mich allerdings bezüglich des Nährbodens auf Leberbouillon beschränkt habe, der ich 1—3 Proz. Essigsäure zusetzte. Bei Salzffischkonserven sind nach Mitteilung Sammets Kokken und Subtilis-Arten an der Bombage schuld.

Ueber verdorbene Gemüsekonserven haben Aderhold (65) und Belser (66) Untersuchungen angestellt. Aderhold fand in 10 verdorbenen Gemüsekonserven außer Subtilis-Arten undefinierte Aëro-

bier, während Belser, wie nach seinen Angaben in ähnlicher Weise auch von Wahl, in dicht gebliebenen bombierten Büchsen in 12 von 18 Fällen Sporenbildner fand, davon 4mal den Amylobacter. Mäusepathogene Keime waren nie darunter.

Nach Kassowicz (67) kommen folgende Bakterien als Erreger von Fleischkonservenbombage in Frage: B. vulgare, B. anthracis und Bac. putrificus; Serger gibt als Bombage verursachend an: Streptococcus pyogenes, Micrococcus pyogenes und aureus, B. vulgare, Bac. anthracis, Bac. mesentericus, B. coli und Streptococcus erysipelatos.

Wir sehen aus vorstehenden die Nahrungsmittelbakteriologie betreffenden Arbeiten, wie ungenügend dieses für die Volksgesundheit wichtige Gebiet erschlossen ist. Es fehlt die systematische Erforschung und Gegenüberstellung der Bakterienflora einwandfreier, verdorbener und gesundheitsschädlicher Nahrungsmittel jeder Art, vor allem eine ausreichende Berücksichtigung und Isolierung der sporenbildenden Anaërobier. Wie schon eingangs erwähnt, war zu hoffen, durch eine Gegenüberstellung dieser Bakterienfloren im Zusammenhang mit den Arbeiten Seebergers und Korentschewskys Klarheit darüber zu erlangen, inwieweit auch besonders die als Saprophyten bekannten Aërobier und Anaërobier durch Stofffwechselprodukte Nahrungsmittelvergiftungen herbeiführen können. Ich hatte es mir deshalb zur Aufgabe gemacht, in Zusammenarbeit mit der hiesigen Lebensmitteluntersuchungsstelle am Hygienischen Institut (die seit 1. 7. 1925 in die Landeslebensmitteluntersuchungsanstalt am Hygien. Institut aufgegangen ist), sowie mit der Rostocker Gewerbepolizei einwandfreie und verdorbene sowie solche Nahrungsmittel bakteriologisch zu untersuchen, nach deren Genuß Erkrankungen aufgetreten waren. Die Untersuchung erstreckte sich unter Verwendung der Spezialnährböden natürlich besonders auch auf die Angehörigen der Paratyphus-Coli-Gruppe. Neben Anfertigen eines oder mehrerer Gram-Präparate erfolgte die Verarbeitung des aus den eingelieferten Nahrungsmitteln steril entnommenen Materials kulturell:

1) aërob:
   a) durch Einbringen in Bouillon und Galle zwecks Anreicherung und nachfolgender Differenzierung etwa vorhandener Bakterien.
   b) durch direktes Ausstreichen einer bestimmten Menge Material auf Agar-, Endo-, Drigalski-Platten.
2) anaërob: durch Einbringen von Material in mindesten 2 Leberbouillonröhrchen und Bebrüten derselben im Exsikkator bei ca. 20 mm Luftdruck.

Die Züchtung, Isolierung und Identifizierung der anaëroben Sporenbildner geschah im Wesentlichen nach den Grundsätzen Zeißlers (68). Anstelle frischen Menschenblutes mußte den örtlichen Verhältnissen entsprechend im allgemeinen defibriniertes Schüttelblut zum Gießen der Traubenzucker-Blutagarplatten benutzt werden, das indessen nach meinen Versuchen den Anforderungen genügte. Statt des Maaßenschen Exsikkators zum Bebrüten der Röhrchen und Platten wurden 2—$3^1/_2$ Liter-Weckgläser mit bestem Erfolg verwendet, die vermittels einer 1924 beschriebenen bei Leitz-Berlin erhältlichen Saugdüse durch die Wasserstrahlpumpe evakuiert wurden. In ein $3^1/_2$ Liter-Weckglas lassen sich etwa 8 Platten hineinstellen, auf die dann eine große Schale (ca. $11^1/_2$ cm Durchmesser, 5 cm Höhe) für Pyrogallol-Kalilauge gesetzt, wird, in der eine kleine Schale (ca. 7 cm Durchmesser und 3 cm Höhe) mit Aqua dest. gefüllt steht. Pyrogallol und Kalilauge werden auch

hier durch eine Zellstofflage und durch Schrägstellen des Weckglases bis zur optimalen Luftleere (meist 15—20 mm) getrennt gehalten und erst beim Herausziehen der zwischen den zwei Gummiringen sitzenden Saugdrüse durch Geradestellen des Exsikkators vereinigt. Auf die Vorteile der Weckgläser als Exsikkatoren zur Anaërobenzüchtung habe ich (69) an anderer Stelle hingewiesen. Ein Nachteil liegt in dem Widerstand, welchen die Gummiringe bei dem großen Vakuum dem Oeffnen häufig entgegensetzen. Nach meinen schlechten Erfahrungen mit allen hierfür auf dem Markt befindlichen Vorrichtungen geschieht dieses Oeffnen am besten durch langsames Hervorziehen der Gummiringe, was, wie gesagt, bisweilen schwer ist. Zur Behebung dieses Uebelstandes stellt Leitz-Berlin nach meinen Angaben neuerdings Exsikkatoren her, deren Deckel nach dem Zentrum hin vertieft sind. In der Mitte der Vertiefung befindet sich eine runde, durch einen weichen Gummistopfen dicht verschließbare Oeffnung. Durch die Vertiefung der Deckelmitte wird verhindert, daß der Gummistopfen die obere Deckelebene überragt, so daß ein Aufeinanderstellen mehrerer Exsikkatoren möglich ist. Durch leichtes Anziehen des Gummistopfens lassen sich diese Exsikkatoren leicht und schonend öffnen. Ich erprobe einen solchen Exsikkator seit Monaten mit bestem Erfolg. Er vereinigt alle guten Eigenschafften in sich, die ein Exsikkator zur Anaërobenzüchtung haben muß: bequem zu handhaben, schlußsicher, sauber, möglichst wenig toten Raum enthaltend, anspruchslos bezüglich Brutschrankraumes, leicht zu öffnen und sehr dauerhaft in Ermangelung leicht abbrechbarer Glasansätze, -hähne usw.

Meine Untersuchungen erstrecken sich über 2 Jahre, vom September 1923 bis zum Oktober 1925. Untersucht wurden:

58 Würste,
1 eingewecktes Schweinefleisch,
1 Stück Rindfleisch vom Schlachter,
1 Probe Hackfleisch,
1 gebratener Schweineschinken,
1 falscher Hasenbraten,
1 Pökellake aus einer Wurstfabrik,
1 Krebsschwänzekonserve,
1 Lachskonserve,
1 Maggi-Erbssuppenwürfel,
1 Maggi-Grünkernsuppenwürfel.

Einer besseren Uebersicht wegen werde ich zunächst die Wurstuntersuchungen besprechen und zum Schluß auf die Ergebnisse der anderen Lebensmitteluntersuchungen eingehen.

Die Gliederung der 58 Würste nach Wurstart und jeweiligem Zustand der Wurst veranschaulicht nachfolgende Tabelle I:

Tabelle I.

Wurstart	Einwandfrei	Sinnlich wahrnehmbar verdorben	Gesundheitsschädlich
Leberwurst	11	3	5
Blutwurst	2	0	3
Preßkopf	0	0	1
gekochte Mettwurst	4	0	0
Weckleberwurst	2	3	0
Teewurst	2	0	1
Knoblauchwurst	1	0	0
geräucherte Mettwurst	9	2	3
harte Dauerwurst	3	0	0
Schinkenwurst	1	0	0
Braunschweigerwurst	1	0	0
Brühwürstchen	1	0	0
Sa.	37	8	13

Als verdorben sind die Würste bezeichnet worden, welche wegen unnormaler Verfärbung im Innern oder eines nicht einwandfreien Geruches zur Untersuchung gebracht wurden, bevor davon gegessen worden ist, so daß Gesundheitsschädigungen durch sie nicht erst eintreten konnten. Gesundheitsschädlich wurden diejenigen Würste genannt, nach deren Genuß Erkrankungen meistens mehrerer Personen derselben Familie aufgetreten waren. Diese Erkrankungen bestanden im allgemeinen in leichten Beschwerden, Gastroenteritiden, einmal in einem botulismusähnlichen Bild.

An Bakterien wurden gezüchtet:

A. Aus den einwandfreien Würsten:

1) anaërob:	Aus insgesamt 38 Würsten
Fränkelscher Gasbazillus	22 × = 58 Proz.
Putrificus verrucosus (Warze)	5 × = 13 „
„ tenuis	3 × = 8 „
Amylobacter	3 × = 8 „
2) aërob	
Subtilis	29 × = 76 Proz.
Kokken	12 × = 34 „
Coli	10 × = 26 „
Proteus	2 × = 5 „

B. Aus den sinnlich wahrnehmbar verdorbenen Würsten:

1) anaërob:	Aus insgesamt 8 Würsten
Fränkelscher Gasbazillus	2 × = 25 Proz.
Putrificus verrucosus (Warze)	1 × = 12 „
„ tenuis	1 × = 12 „
Amylobacter	1 × = 12 „
Pararauschbrand	2 × = 25 „
2) aërob:	
Subtilis	5 × = 62 Proz.
Kokken	3 × = 37 „
Coli	2 × = 25 „
Proteus	1 × = 12 „

C. Aus den Würsten, deren Genuß eine vorübergehende Gesundheitsschädigung zur Folge hatte:

1) anaërob:	Aus insgesamt 12 Würsten
Fränkelscher Gasbazillus	5 × = 42 Proz.
Putrificus verrucosus (Warze)	3 × = 25 „
„ tenuis	1 × = 8 „
Pararauschbrand	1 × = 8 „
2) aërob:	
Subtilis	10 × = 83 Proz.
Kokken	5 × = 42 „
Coli	5 × = 42 „
Proteus	1 × = 8 „

A, B und C tabellarisch gegenübergestellt, ergibt folgendes Bild (Tabelle II):

Bei der geringen Zahl von Untersuchungen verdorbener und gesundheitsschädlicher Würste wäre es ein Fehler, die Zahlen von B und C ohne Einschränkung denen von A gegenüberzustellen. Ich habe

Tabelle II.

Bakterienart	A in einwandfreien Würsten	B in verdorbenen Würsten	C in gesundheitsschädl. Würsten
anaërob:			
Fränkelscher Gasbazillus	58 Proz.	25 Proz.	42 Proz.
Putrificus verrucosus	13 „	12 „	25 „
„ tenuis	8 „	12 „	8 „
Amylobacter	8 „	12 „	—
Pararauschbrand	—	25 „	8 „
aërob:			
Subtilis	76 „	62 „	83 „
Kokken	34 „	37 „	42 „
Coli	26 „	25 „	42 „
Proteus	5 „	12 „	8 „

jedoch alle in 2 Jahren eingelieferten verdorbenen und gesundheitsschädlichen Würste untersucht, bei denen eine einwandfreie sterile Materialentnahme möglich war. Es wurde davon Abstand genommen, zur Erlangung einer größeren Zahl verdorbener Würste einwandfreie Würste zu kaufen und sie durch unzweckmäßige Aufbewahrung verderben zu lassen. Man würde ja im wesentlichen in so verdorbenen Würsten keine anderen Bakterienarten finden, als bei ihrer Untersuchung in einwandfreiem Zustand. Bei den zur Untersuchung eingelieferten verdorbenen Würsten handelt es sich oft um Würste aus solchem Fleisch, welches bereits intra vitam oder auf Grund unsauberer Verarbeitung mit bestimmten Bakterienarten infiziert ist, so daß die Bakterienflora der in „natürlicher“ Weise verdorbenen Würste eine ganz andere sein kann und meistens sein wird, als die der „künstlich verdorbenen“.

Immerhin scheint die vorstehende Tabelle trotz Berücksichtigung ihrer Schwächen nicht ganz wertlos. Während z. B. in einwandfreien Würsten der Pararauschbrandbazillus nie gefunden wurde, erscheint er in den verdorbenen mit 25 Proz., in den gesundheitsschädlichen mit 8 Proz. Das häufigere Auftreten von Proteus, Putrificus tenuis und Amylobacter in verdorbener Wurst gegenüber einwandfreier scheint mir auch kein Zufall zu sein, obwohl die Unterschiede hier zum Teil nur gering sind. Bei den gesundheitsschädlichen Würsten der Spalte C fallen die durchweg höheren Zahlen der Aërobier gegenüber Spalte A und B auf. Man mag im Zusammenhang mit den eingangs erwähnten Versuchen Seebergers heraus den Schluß ziehen können, daß zum mindesten einige der Aërobier für die Bildung giftiger Stoffwechselprodukte in Würsten nicht bedeutungslos sind.

Bemerkenswert hoch ist in der Spalte C auch die Zahl des Putrificus verrucosus. Hierbei erinnern wir uns der Versuche Korentschewskys, der an Versuchstieren die Giftwirkung dieses Anaërobiers zeigte, allerdings vergesellschaftet mit dem Amylobacter, den ich indessen in gesundheitsschädlichen Würsten keinmal nachweisen konnte, so daß vielleicht die Annahme berechtigt ist, daß er auch bei den Versuchen Korentschewskys eine geringere Rolle als die „Warze“ Putrificus verrucosus gespielt hat.

Die Häufigkeit des Fränkelschen Gasbazillus in Würsten fällt nicht weiter auf. Der Fränkel nimmt unter den Anaërobiern als Hans in allen Gassen dieselbe Stelle ein, wie der Bac. subtilis unter den Aërobiern. Beide findet man überall, den Fränkel vornehmlich auch

im menschlichen Körper. Raßfeld (70) untersuchte das Blut menschlicher Leichen in 400 Fällen und fand es 200mal bakteriell infiziert und zwar wurde gefunden:

Fränkel	19mal, d. h. in 9,5 Proz.
Proteus	14mal, „ „ „ 7 „
Putrificus tenuis	5mal, „ „ „ 2,5 „
Paratyphus A und B	3mal, „ „ „ 1,5 „

Die Blutinfektion erfolgte im allgemeinen intra oder post mortem vom Darm aus. Zeißler und Kaekell (71) fanden den Fränkel bei Untersuchungen von Säuglingsstühlen in 17 von 26 Fällen, d. h. in ca. 68 Proz. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt Kleinschmidt (72), der 8mal Säuglingsstühle bei vorliegendem Milchnährschaden untersuchte und trotz sonst veränderter Darmflora u. a. 5mal den Fränkel nachwies, d. h. in 62,5 Proz. Daß er außer einem dem Sporogenes Metschnikoff ähnlichen Bazillus den Putrificus verrucosus 8mal, d. h. in 100 Proz. fand, sei im Zusammenhang mit den Versuchen Korentschewskys noch besonders hervorgehoben. Kleinschmidt glaubt auf Grund des Hervortretens dieser beiden Anaërobier zu dem Schluß berechtigt zu sein, daß diese Keime bei dem Milchnährschaden der Säuglinge quantitativ besonders hervortreten und vielleicht auch von Bedeutung für die Verdauungsvorgänge sind.

Nachdem wir nun das Vorkommen der verschiedenen Bakterienarten im Verhältnis zu der Gesamtzahl der von mir untersuchten einwandfreien (A), verdorbenen (B) und gesundheitsschädlichen (C) Würste kennen gelernt haben, ist die Frage zu beantworten: welche Bakterienarten wurden bei den einzelnen Untersuchungen zu A, B und C gefunden unter besonderer Berücksichtigung der Wurstqualitäten und Sorten.

Im allgemeinen kann gesagt werden: die Zahl der gefundenen Bakterienarten ist von der Sorte und Qualität[1]) der Wurst unabhängig. So habe ich z. B. gefunden:

I. in a) geräucherter Leberwurst aus bestgerühmter hiesiger Schlachterei; Aussehen, Geruch, Geschmack tadellos:
1) Fränkelschen Gasbazillus,
2) Warze,
3) Putrificus tenuis,
4) Proteus,
5) Subtilis;

in b) verdorbener geräucherter Leberwurst von einem kleineren Schlachter:
1) Fränkelscher Gasbazillus,
2) Kokken,
3) Subtilis;

in c) Hausmacherleberwurst von einem Landwirt, nach deren Genuß die ganze Familie an Magendarmkatarrh erkrankte:
1) Fränkelscher Gasbazillus,
2) Subtilis;

II. in a) erstklassiger geräucherter Hausmachermettwurst:
1) Warze (Putrificus verrucosus),
2) Staphylokokken;

in b) verdorbener, geräucherter, im Innern kreisförmig graugelb verfärbter Bauernmettwurst:
1) Pararauschbrand,
2) Subtilis;

---

1) Qualität, wie sie dem Verkäufer, nicht dem Untersucher, erscheint.

in c) geräucherter Mettwurst, nach deren Genuß eine ganze Familie an Erbrechen erkrankte, die aber einen einwandfreien Eindruck machte:
1) Staphylokokken,
2) Subtilis;

III. in a) erstklassiger Teewurst einer als sehr gut geltenden Schlachterei:
1) Kokken,
2) Coli,
3) Proteus,
4) Putrificus tenuis;

in b) der Teewurst einer allgemein bekannten hinterpommerschen Wurstfabrik:
1) Kokken,
2) Subtilis,
3) Coli;

in c) der Teewurst einer hiesigen Wurstfabrik, nach deren Genuß mehrere Familien an Gastroenteritis erkrankten:
1) Subtilis,
2) Coli,
3) Kokken,
4) Pararauschbrand,
5) Warze (Putrificus verrucosus).

Auch bei der billigen im allgemeinen aus minderwertigen Organen, Fleischabfällen und dergleichen hergestellten sogenannten „gekochten Mettwurst" sind die Untersuchungsergebnisse recht verschieden. Ich fand z. B. in 3 äußerlich einwandfreien Würsten dieser Art von 3 verschiedenen Schlachtern:

IV. a) nur den Fränkel,
b) nur den Subtilis,
c) aërobe nicht näher bestimmte grampositive und gramnegative Stäbchen (kein Coli); anaërob die Warze.

Betrachten wir nun im einzelnen die Untersuchungsergebnisse zu A, B und C, so können wir im allgemeinen einen Unterschied feststellen zwischen erhitzten und nicht erhitzten Würsten. Die erhitzten Würste werden durchschnittlich so hoch erwärmt, daß die vegetativen Bakterienformen abgetötet werden und nur Dauerformen erhalten bleiben, so daß man meistens nur Sporenbildner züchtet und zwar vornehmlich den Fränkelschen Gasbazillus und den Bacillus subtilis. In den von mir untersuchten 58 Würsten wurde der Fränkel und der Subtilis vergesellschaftet oder einzeln 18mal gefunden, d. h. in 31 Proz., davon 12 Male = 67 Proz. in Wurstmassen, die vor oder nach Einfüllen in den Darm erhitzt waren (Blut-, Leber-, Brüh- und gekochte Mettwurst).

Wenn noch häufig genug in Leber-, Blut und anderen erhitzten Würsten Nichtsporenbildner selbst verschiedener Art gefunden wurden, so deutet das auf ungenügende Erhitzung der Würste hin. Bei 29 von mir untersuchten erhitzten Würsten fand ich u. a. 14mal Nichtsporenbildner, d. i. in ca. 50 Proz. Nachstehende Uebersicht zeigt das Vorkommen von nicht sporenbildenden Bakterien bei den einzelnen erhitzten Wurstsorten (Tab. III).

Tabelle III.

Erhitzte Wurstart	Zahl der erfolgten Untersuchungen	Wie oft Nichtsporenbildner?	Proz. der Nichtsporenbildner
Leberwurst im Darm	17	11	65
Blutwurst im Darm	5	2	40
gekochte Mettwurst	7	1	15
Brühwürstchen	3	0	0

Der hohe Prozentsatz von Nichtsporenbildnern in Leberwürsten kann dadurch erklärt werden, daß der Schlächter die fettreichste und wertvollste der erhitzten Wurstarten zur Vermeidung von Geschmacks-, Gewichts- und Fettverlusten ungern länger erwärmt als unbedingt nötig scheint. So kommt leicht eine ungenügende Erhitzung heraus, die zum Abtöten der vegetativen Bakterienformen nicht ausreicht. Es ist bezeichnend, daß die minderwertigsten der von mir untersuchten erhitzten Wurstsorten, die gekochten Mettwürste, nur in 15 Proz. Nichtsporenbildner enthielten, von 7 nur eine. Wahrscheinlich ist in meinen Fällen das zu der Herstellung dieser Würste benutzte Fleisch u. dgl. so fragwürdig gewesen, daß ein längeres, möglichst hohes Erhitzen mehr wie angezeigt war.

Eine besondere Stellung nehmen die Brühwürstchen ein, da sie im allgemeinen hierorts vom Schlachter nur kurz mit siedendem Wasser übergossen werden. Man könnte meinen, in dieser Kategorie von kurz erhitzten Würsten vegetative Bakterienformen häufiger anzutreffen. Ich habe, wie Tab. III zeigt, bei allerdings nur 3 Brühwürstchenuntersuchungen nur Sporenbildner isolieren können. Die Erklärung für diese gute Beschaffenheit der Brühwürstchen in kulturell-bakteriologischer Hinsicht ist wohl damit gegeben, daß diese Wurstart aus ganz frischem oft noch lebend warmem Fleisch hergestellt wird, das zu verunreinigen noch nicht viel Gelegenheit war. Dem kurzen Uebergießen mit siedendem Wasser kann eine bakterientötende Wirkung zumal im Wurstinnern nur in geringem Maße zuerkannt werden.

Nach diesem Allgemeinüberblick über das Vorkommen der einzelnen Bakterienarten in den verschiedenen Wurstsorten und Qualitäten ist zu untersuchen, wie sich dieselben innerhalb der Gruppen A (einwandfrei), B (verdorben), C (gesundheitsschädlich) auf die verschiedenen Wurstsorten verteilen. Die Tab. IV bis VI geben darüber Auskunft.

Tabelle IV.

A. Einwandfreie Wurst.

Bakterienart	Leberwurst (Darm)	Leberwurst (Konserve)	Blu-t(Rot-) wurst	Gekochte Mettwurst	Brüh-würstchen	Teewurst	Mettwurst	Harte Dauerwurst	Sa.
B. amylobacter	1	—	—	—	—	—	1	—	2
B. Fränkel	4	—	1	3	—	1	8	3	20
Warze	3	1	—	1	—	—	1	—	6
Putr. tenuis	1	—	1	1	—	1	—	—	4
B. Pararauschbrand	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. subtilis u. vulgatus	11	—	2	3	1	1	4	4	26
B. proteus	1	—	—	—	—	1	—	—	2
B. coli	3	—	—	—	—	2	3	1	9
Kokken	3	—	—	1	—	2	6	1	13
nicht identifizierte aërobe Stäbchen	—	—	—	1	—	—	1	—	2

Tabelle IV zeigt uns das Fehlen des Pararauschbrandbazillus, ferner das seltene Vorkommen des B. proteus in den untersuchten 38 einwandfreien Würsten. Auf das allgemein häufige Auftreten des Bac. subtilis und Fränkel in Fleischwaren war an anderer Stelle bereits hingewiesen worden. In der Tab. V beachten wir bei 8 Untersuchungen

Tabelle V.
B. Verdorbene Wurst.

Bakterienart	Leberwurst (Darm)	Leberwurst (Konserve)	Blut-(Rot-)wurst	Gekochte Mettwurst	Preßkopf	Brühwürstchen	Teewurst	Mettwurst	Harte Dauerwurst	Sa.
B. amylobacter	—	—	Nicht zur Untersuchung eingegangen	Nicht zur Untersuchung eingegangen	Nicht zur Untersuchung eingegangen	Nicht zur Untersuchung eingegangen	Nicht zur Untersuchung eingegangen	—	—	—
B. Fränkel	1	—						1	—	2
Warze	—	1						—	—	1
Putr. tenuis	—	1						—	—	1
B. Pararauschbrand	—	1						1	—	2
B. subtilis u. vulgatus	2	2						1	1	6
B. proteus	—	—						1	—	1
B. coli	—	—						1	1	2
Kokken	2	1						—	—	3
nicht identifizierte aërobe Stäbchen	—	1						—	—	1

Tabelle VI.
C. Gesundheitsschädliche Wurst.

Bakterienart	Leberwurst (Darm)	Leberwurst (Konserve)	Blut-(Rot-)wurst	Gekochte Mettwurst	Preßkopf	Brühwürstchen	Teewurst	Mettwurst	Harte Dauerwurst	Sa.
B. amylobacter	1	Nicht zur Untersuchung eingegangen	—	Nicht zur Untersuchung eingegangen	—	Nicht zur Untersuchung eingegangen	—	—	Nicht zur Untersuchung eingegangen	1
B. Fränkel	4		1		—		—	—		5
Warze	1		—		—		1	—		2
Putr. tenuis	1		—		—		—	—		1
B. Pararauschbrand	—		—		—		1	—		1
B. subtilis u. vulgatus	5		2		—		1	2		10
B. proteus	—		1		—		—	—		1
B. coli	2		—		—		1	1		4
Kokken	2		1		1		1	1		6
nicht identifizierte aërobe Stäbchen	—		—		1		—	—		1

verdorbener Würste den zweimaligen Befund von Pararauschbrandbaz., der in einwandfreien Würsten fehlte, und des Fränkelschen Gasbazillus, der prozentual in Tab. IV etwa doppelt so häufig anzutreffen ist. Daß sich unter den verdorbenen Würsten lediglich Leber- und geräucherte Mettwürste befanden, dürfte kein Zufall sein. Beide Arten werden, wie wir sahen, zu wenig oder gar nicht erhitzt und beide enthalten genügend Wasser, um einen guten Nährboden für Bakterien abzugeben. Die genügende Wassermenge fehlt vor allem den harten Dauer- und auch den festen Blut- und Zungenwürsten. Die Wasserreichen „gekochten Mettwürste" sind, wie wir sahen, zumeist zu gut gekocht, als daß vegetative Bakterienformen überleben würden, so daß sie demgemäß auch nicht durch Bakterienwachstum leicht zersetzt werden können.

In den 12 gesundheitsschädlichen Würsten der Tab. VI finden wir den Pararauschbrandbaz. nur einmal vertreten. Mir scheint es trotz dessen nicht ausgeschlossen, daß dieser Bazillus bei dem Verderben und Gesundheitsschädlichwerden der Würste eine besondere Rolle gespielt hat. Den Proteus sehen wir in den Tabellen V und VI, d. h. bei

20 Untersuchungen verdorbener und gesundheitsschädlicher Würste genau so oft wie in den 38 einwandfreien Würsten, nämlich 4 Male.

Tabelle VII.

Wurstart	Qualität	Amylobacter	Fränkel-Gasbazillus	Putrif. verrucosus (Warze)	Putrif. tenuis	Pararauschbrand	Subtilis-Art	Proteus	Coli bzw. Coli-ähnl.	Kokken	Nicht bestimmte Stäbchen (aërobe)
1. Leberwurst (Darm)	A	.	.	.	.	.	I	.	.	.	.
		.	.	II	.	.	II	.	.	II	.
		.	III	.	.	.	III	.	.	.	.
		.	IV	IV	.	.	IV	.	.	IV	.
		.	V	V	V	.	V	V	.	.	.
		.	.	.	.	.	VI	.	VI	.	.
		VII	.	.	.	.	VII	.	.	.	.
		.	.	.	.	.	VIII	.	VIII	.	.
		.	.	.	.	.	IX	.	.	.	.
		.	X	.	.	.	X	.	.	.	.
		.	.	.	.	.	XI	.	.	.	.
		.	XII	.	.	.	XII	.	.	.	.
	B		I	.	.	.	I	.	.	I	.
				.	.	.	II	.	.	II	.
	C	.	I	.	.	.	I	.	.	.	.
		.	II	II	II	.	II	.	.	.	.
		III	III	.	.	.	III	.	.	III	.
		.	.	.	.	.	IV	.	IV	IV	.
		.	V	.	.	.	V	.	V	.	.
2. Leberwurst (Konsere)	A	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.
		.	.	.	steril	(II)	.	.	.	.	.
	B	.	.	I	.	I	.	.	.	I	I
		.	.	.	II	.	II	.	.	.	.
		.	.	.	.	.	III	.	.	.	.
	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3. Blut-(Rot-)wurst	A	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.
	B	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	C	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.
			.	.	.	.	II	.	.	II	.
			.	.	.	.	III	III	.	.	.
4. Gekochte Mettwurst	A	.	I	.	I	.	I	.	.	.	.
		.	.	II	.	.	.	.	.	II	II
		.	.	.	.	.	III	.	.	.	.
		.	IV	.	.	.	.	.	.	.	.
		.	V	.	.	.	V	.	.	.	.
	B	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5. Preßkopf	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	B	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	C	.	.	.	.	.	.	.	.	I	I
6. Brühwürstchen	A	.	.	.	.	.	I	.	.	.	.
	B	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Wurstart	Qualität	Amylobacter	Fränkel-Gasbazillus	Putrif. verrucosus (Warze)	Putrif. tenuis	Pararauschbrand	Subtilis-Art	Proteus	Coli bzw. Coli-ähnl.	Kokken	Nicht bestimmte Stäbchen (aërobe)
7. Teewurst	A	.	.	.	.	.	.	.	I	I	.
		.	II	.	.	.	II	.	II	II	.
		.	.	.	III	.	.	III	III	III	.
		.	.	.	.	.	IV	.	IV	IV	.
	B	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	C	.	.	I	.	I	I	.	I	I	.
8. Mettwurst	A	.	.	.	.	.	I	.	.	I	.
		.	II	.	.	.	.	.	.	.	.
		.	III	.	.	.	III	.	.	.	.
		IV	IV	.	.	.	IV	.	.	IV	.
		.	V	.	.	.	.	.	V	.	.
		.	VI	.	.	.	.	.	.	.	.
		.	VII	.	.	.	.	.	.	VII	VII
		.	VIII	.	.	.	.	.	.	.	.
		.	.	IX	.	.	.	.	.	IX	.
	B	.	.	.	.	I	I	.	.	.	.
		.	II	.	.	.	.	II	II	.	.
	C	.	.	.	.	.	I	.	I	.	.
		.	.	.	.	.	II	.	.	II	.
		.	III	.	.	.	III	.	III	III	.
9. Harte Dauerwurst	A	.	I	.	.	.	I	.	.	I	.
		.	II	.	.	.	II	.	.	.	.
		.	III	.	.	.	III	.	.	.	.
	B	.	.	.	.	.	I	.	I	.	.
	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Dieser häufigere Befund des Proteus in nicht einwandfreien gegenüber guten Würsten kann nicht wundernehmen; kennen wir doch die putrifizierende Eigenschaft des Proteus und die Fähigkeit gerade auch dieses Bakteriums, Stoffwechselgifte zu bilden, zur Genüge.

Zur Ergänzung der Tab. IV, V und VI und um allen denen ein übersichtliches Bild der Bakterienbefunde in den einzelnen Fällen meiner Untersuchungen zu geben, die besonderes Interesse für diese Einzelresultate haben, verweise ich auf Tab. VII. A bedeutet wieder einwandfrei, B verdorben, C gesundheitsschädlich. Innerhalb der einzelnen Rubriken A, B und C ist jede Wurstuntersuchung fortlaufend mit einer römischen Zahl versehen. Gleiche römische Zahlen in derselben Rubrik A, B oder C gehören derselben Wurstuntersuchung an, so daß z. B. unter Leberwurst (Darm) A III die Bakterienarten zu finden sind, die bei der Untersuchung der dritten einwandfreien Darmleberwurst isoliert wurden.

Interessant sind bei dieser Tabelle zunächst einige Befunde der Leberwurstkonserven. Eine einwandfreie Büchsenwurst einer Konservenfabrik war nach meiner Untersuchung keimfrei. Eine in einem Privathaushalt hergestellte einwandfreie Weckleberwurst enthielt als einzige Bakterienart die Warze (Putrificus verrucosus). Da anzunehmen ist, daß diese oder verwandte sporenbildende Fäuniserreger bei weiteren Untersuchungen häufiger gefunden werden würden — gelang ihr Nachweis doch auch in 25 Proz. der einwandfreien Darmleberwürste —

ist die Zersetzung der Konservenleberwurst bei unsachgemäßer Aufbewahrung wohl häufig auf das Wachstum dieser Anaërobiergruppe zurückzuführen. Daß aber auch der Heubazillus (subtilis) für sich allein Wurstzersetzung bewirken kann, zeigt uns Fall B III der Leberwurstkonserven. Es bestand in diesem Fall Bombage. Die Wurst roch stark sauer. Es deckt sich dieser Befund mit den früher angeführten Untersuchungsergebnissen von Sammet und Aderhold, die u. a. den Subtilis für Bombage bei Fisch- bzw. Gemüsekonserven verantwortlich machen. Auch v. Wahl und Belser fanden in verdorbenen Gemüsekonserven vornehmlich Sporenbildner, die als Urheber der Zersetzungsprozesse angesprochen werden. Eine Identifizierung der gefundenen Arten hat leider anscheinend durch diese Forscher nicht stattgefunden.

Näher einzugehen ist zum Schluß noch auf einige Befunde aus gesundheitsschädlichen Würsten (Rubriken C der Tab. VII). Es ist auffallend, daß die von mir untersuchten Würste, nach deren Genuß Einzel- oder Gruppenerkrankungen aufgetreten sind, in die Zeit vom September 1923 bis Januar 1925 fallen. Der Gedanke liegt nahe, daß unter der Einwirkung der verderblichen Inflation zur Zeit ihres Höhepunktes (Herbst 1923), in der alles Mögliche verwertet wurde, auch altes oder von kranken oder gefallenen Tieren stammendes Fleisch bewußt oder unbewußt an den Mann gebracht wurde, indem es in irgendeiner Form, teilweise sicher als Wurst, zum Verkauf auf den Markt kam. Der Befund von Pararauschbrand in den 2 vordorbenen und einer gesundheitsschädlichen Wurst stützt diese Annahme. Ist doch Pararauschbrand vornehmlich eine Erkrankung der Schlachttiere, und zwar keine so seltene. Daß es in solchem Fleisch, sei es nun intra vitam oder post mortem bakteriell durchwachsen, besonders leicht zur Zersetzung und Bildung von Stoffwechselgiften seitens verschiedener Bakterienarten kommen kann, liegt auf der Hand. Wir wissen, daß die ungesunden Wirtschaftsverhältnisse gerade auch die des Lebensmittelgewerbes, die die Inflation der Mark lange überlebten, selbst heute noch nicht ganz verschwunden sind, so daß sich auch die Verwendung minderwertigen Fleisches zur Wurstbereitung bis zum Beginn des Jahres 1925 durch häufigere, wenn auch meist leichte Erkrankungen bemerkbar machen mußte. Anders vermag ich mir die erhebliche Besserung bezüglich der Bakterienflora in den zur Untersuchung gelangten Würsten und das seltenere Vorkommen solcher Untersuchungen im Zusammenhang mit Nahrungsmittelvergiftungen seit Beginn 1925 nicht zu erklären. Bei 18 Untersuchungen verschiedener Wurstarten seit Beginn des Jahres 1925 fand ich 2mal keine Bakterien, 1mal Subtilis und Putrificus tenuis, 1mal Sarcine und Subtilis, 1mal Kokken und Coli, 3mal nur Subtilis, 3mal nur Fränkel, 3mal nur Bac. vulgatus, 4mal nur Fränkel und Subtilis.

Diese Bakterienflora in den Würsten des Jahres 1925 ist eine ganz andere wie die in der Tab. VII veranschaulichte der Jahre Herbst 1923 bis Januar 1925. Mir scheint diese Feststellung nicht unwesentlich zu sein für die Bemessung der Wichtigkeit der bakteriologischen Nahrungsmittelkontrolle, die leider noch sehr im Argen liegt. Viele Bakterienarten in einer Wurst, mag sie auch noch so gut scheinen und schmecken, werden hiernach immer zu dem Verdacht nicht einwandfreier Wurstherstellung berechtigen, sei es daß unsauber gearbeitet oder bakteriell durchsetztes Fleisch oder Gedärm benutzt worden

ist. Wir müssen dahin kommen, daß auch in dem kleinsten Wurstbetrieb staatlicherseits aufzustellende hygienische Forderungen nicht weniger erfüllt werden, als es heute schon in anderen großen Lebensmittelbetrieben (Konservenfabriken, Dampfbäckereien) geschieht.

Beim näheren Betrachten der gesundheitsschädlichen Würste (C) will ich auf die wenigen Fälle nicht weiter eingehen, in denen es sich um Erkrankungen von einzelnen Personen handelt, bzw. um solche, bei welchen es mir nicht ganz sicher schien, daß der angeschuldigten Wurst eine kausale Bedeutung für die Erkrankungen tatsächlich zukam. Es sind dieses 5 Fälle. Bei den übrigen 7 handelt es sich

1) (Fall 1 C I der Tabelle) um eine äußerlich einwandfreie Hausmacherleberwurst von einem Landwirt, nach deren Genuß die ganze Familie an Erbrechen und Durchfall erkrankt ist. Die Gebärmutter der geschlachteten Sau soll eingerissen gewesen sein. Die bakteriologische Untersuchung ergab den Bac. subtilis und Fränkelschen Gasbazillus. — Da der Fränkel bei gewissen Erkrankungen von Schlachttieren häufiger gefunden wird, halte ich es für wahrscheinlich, daß er in diesem Fall in Zusammenhang zu bringen ist mit der angeblich vorhanden gewesenen Uteruserkrankung der Sau, und daß in diesem Falle seine Stoffwechselgifte für das Zustandekommen der Erkrankung der Erbpächterfamilie ursächliche Bedeutung haben. Eine Steigerung der Giftigkeit der Stoffwechselgifte des Fränkelschen Gasbazillus durch die vorausgegangene Tierpassage kann man vielleicht annehmen. Auf die mögliche Bedeutung des Bac. subtilis für das Zustandekommen von Nahrungsmittelvergiftungen komme ich bei einem anderen Fall zurück.

2) (Fall 1 C II.) Nach dem Genuß einer in einem Kolonialwarengeschäft gekauften, zwar nicht nach Leber riechenden, sonst aber einwandfrei aussehenden Leberwurst erkrankten 2 Männer und 2 Frauen an Magenschmerzen und Uebelkeit. Es wurden aus der Wurst isoliert: Bac. subtilis, Putrificus verrucosus (Warze), Putrificus tenuis und Bac. Fränkel. Angesichts dieser verschiedenartigen Bakterienflora liegt der oben begründete Verdacht nahe, daß hier nicht mehr einwandfreies Fleisch verarbeitet oder bei der Wurstbereitung unsauber verfahren wurde.

3) (Fall 1 C V.) Betrifft eine Landleberwurst, nach deren Genuß zwei Frauen an Durchfall und Uebelkeit erkrankten. Es wurden gefunden B. coli, subtilis und Fränkel. Man könnte geneigt sein, hier dem Coli die Hauptschuld an der Erkrankung zuzumessen. Da indessen, wie wir gesehen haben, Fränkel und Subtilis in ähnlicher Weise Bildung von Stoffwechselgiften bewirken können, scheint es zunächst müssig, in derartigen Fällen ein einzelnes Bakterium als Urheber der Giftbildung hinstellen zu wollen, zumal eine Sammelwirkung mehrerer Bakterienarten durchaus möglich ist. Wir müssen auch bei diesen Untersuchungen daran denken, daß die Forschung über die gegenseitige Einwirkung verschiedener Bakterienarten aufeinander im Sinne einer Potenzierung oder Aktivierung von Lebensäußerungen z. B. der Pathogenität und Virulenz wenngleich schon alt, doch noch in den Kinderschuhen steckt, daß eine solche Einwirkung aber kaum noch geleugnet werden kann.

4) (Fall 3 C III.) Betrifft eine äußerlich einwandfreie dicke Blutwurst aus Hausschlachtung. Ein Mann erkrankte nach Genuß derselben an botulismusähnlichen Erscheinungen. Aus verschiedenen Teilen der eingelieferten fraglichen Wurst konnte nur Proteus und Subtilis gezüchtet werden. Leberbouillonröhrchen mit verschiedenen Wurststücken beschickt, zeigten weder bei 22° noch bei 37° Wachstum eines obligaten Anaërobiers. Ich bin auf diese botulismusähnliche Proteus-Vergiftung an anderer Stelle bereits näher eingegangen.

5) (Fall 7 C I.) Hier handelt es sich um Teewurst eines größeren Wurstbetriebes, die nach Aussehen, Geruch und Geschmack gut war. Von dieser Wurst kauften 3 verschiedene Familien. Alle Beteiligten erkrankten an mehrtägiger, fieberhafter Gastroenteritis. Paratyphus-Gärtner-Bakterien konnten nicht nachgewiesen werden, dagegen der Bac. Pararauschbrand, Putrificus verrucosus, Subtilis, Coli und Kokken. Auf Grund des stets negativen Befundes von Pararauschbrandbakterien bei meinen Untersuchungen einwandfreier Würste liegt der Verdacht nahe, daß der Pararauschbrandbazillus in diesem Fall die Hauptursache der Erkrankungen gewesen ist. Man geht vielleicht in der Annahme nicht fehl, daß hier ein an Pararauschbrand erkrankt gewesenes Tier zur Wurstfabrikation benutzt wurde (12. 9. 1923 = Höhepunkt der Inflation!). Bedenklich erscheinen in diesem Fall schon die 5 verschiedenen in der Wurst nachgewiesenen Bakterienarten.

6) (Fall 8 C III.) Diese geräucherte Mettwurst wurde von einem Arzt ein-

gesandt, weil eine vierköpfige Familie an fieberhaften Durchfällen erkrankt war, bald nachdem sie von der Wurst gegessen hatte. — Die Wurst roch sehr stark gewürzt und übermäßig geräuchert. Die Eber sche Fäulnisprobe war positiv. Kulturell wurden B. coli und subtilis nachgewiesen. Der positive Ausfall der Eber schen Fäulnisprobe bei geräucherter Mettwurst berechtigt zusammen mit dem starken Gewürz- und Geräuchertsein zu dem Verdacht, daß nicht mehr einwandfreies Fleisch zur Wurstbereitung benutzt wurde. Man kann annehmen, daß dieser bakteriell bedingte Zustand des Fleisches zu den Darmerkrankungen geführt hat, und daß Subtilis und Coli in erster Linie diese Zersetzung bewirkt haben.

7) (Fall 8 C II.) Eine von einem anderen Arzt eingesandte geräucherte Mettwurst, nach deren Genuß eine Familie an Erbrechen erkrankte. Aeußerlich und innerlich machte die Wurst einen tadellosen Eindruck. Gezüchtet wurden aus ihr Staphylokokken und B. subtilis, die mit den Erkrankungen ursächlich in Zusammenhang zu bringen wären.

Besonders hinweisen möchte ich nun auf die verschiedenen Krankheitsbilder. Abgesehen von dem botulismusähnlichen Fall zeichnen sich die angeführten Magen-Darmerkrankungen durch einen leichten bis mittelschweren Charakter aus. Dieser Art sind auch die anderen 5 nicht näher aufgeführten Fälle. Häufig findet man in der Literatur die verhältnismäßige Gutartigkeit dieser Nahrungsmittelvergiftungen als Grund dafür angegeben, daß dieselben so selten zur Kenntnis und Untersuchung gelangen und daher so wenig erforscht sind. In der Tat erfordert es engstes Zusammenarbeiten von bakteriologischer und Lebensmitteluntersuchungsstelle, praktischen Aerzten und Gewerbepolizei, wenn man diese Fälle erfassen will. In den oben beschriebenen Fällen finden wir alle Uebergänge von Uebelkeit bis zu mehrtägiger mittelschwerer, fieberhafter Gastroenteritis. Wie weit diese verschiedenen Krankheitsäußerungen zurückzuführen sind auf verschiedene Bakterienarten als letztes ursächliches Moment, muß noch dahingestellt bleiben; daß aber verschiedene Bakterienarten durch ihre Stoffwechselgifte verschieden auf den lebenden Darm einwirken können, haben wir aus den Tierversuchen Seebergers gesehen. Nicht unerwähnt lassen möchte ich vor Verlassen der Wurstvergiftungen die Arbeiten von Much (73), Timm (74) und Heuer (75) aus neuer und neuester Zeit, welche durch Hinzufügen von kleinsten Mengen Milchsäure zur Nährbouillon an sich apathogene Subtilis-Stämme für Mäuse stark pathogen machen konnten. Eine dankbare Aufgabe künftiger Untersuchungen wird es sein, festzustellen, inwieweit auch die Milchsäure der Muskelzellen z. B. des Wurstfleisches in der Lage ist, die in ihm enthaltenen Bakterien zu beeinflussen, sei es in Form einer Virulenzsteigerung im allgemeinen schwach oder avirulenter Arten oder einer Pathogenisierung sonst apathogener Mikroben, sei es in Form eines richtungändernden Einflusses auf die Bildung von Stoffwechselprodukten nach der giftigen oder ungiftigen Seite hin. Interessant scheinen mir diese Versuche gerade mit Rücksicht auf das häufige Vorkommen des Bac. subtilis und seiner Verwandten in Fleischwaren. Daß die Umstimmung durch Milchsäure den oben erwähnten Forschern auch bei Bac. proteus gelungen ist, sei nur nebenher erwähnt. Es eröffnen sich hier jedenfalls bezüglich der chemisch-biologischen Beziehung nicht nur von Nährböden zu Bakterien, sondern auch von Bakterien zu Bakterien weite Möglichkeiten. Deratige Wechselwirkungen könnten erklären, warum unter gleichen äußeren Daseinsbedingungen bei gleichartigen Würsten derselben Schlachtung dieselben Bakterienarten in der einen Wurst A Stoffwechselgifte erzeugen, in der anderen B nicht. Man könnte sich z. B. vorstellen, daß in der Wurst A gewisse Bakterien an einer Stelle

bezüglich des Wassergehaltes und der Konsistenz des Wurstfleisches günstigere Bedingungen finden und das Zusammentreffen bestimmter Bakterienarten an dieser Stelle verschieden ist von dem in der Wurst B. Unter solchen Umständen mag dann eine chemisch-biologische Einwirkung von Nährböden auf Bakterien oder Bakterienart X auf Bakterienart Y an dieser Stelle der Wurst A eine ganz andere sein wie z. B. in der überall gleichmäßig fest gestopften Wurst B. Die Bildung von Stoffwechselgiften und eine Magendarmstörung nach Genuß dieses Wurstteiles A könnte die Folge sein.

Endlich will ich nun noch kurz die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung von anderen verschiedenartigen Lebensmitteln mitteilen, da sie in mancher Beziehung nicht uninterassant sind. Sie wurden sämtlich der Lebensmittel-Untersuchungsstelle des Hygienischen Instituts Rostock übersandt, weil sie teils für verdorben, teils für gesundheitsschädlich gehalten wurden.

a) Pökellake einer großen Wurst- und Konservenfabrik. Sie wurde von der Fabrikleitung zur Untersuchung gebracht, weil sie als Ursache für das leichte Verderben gepökelter Fleischware angesehen wurde. Aus ihr wurden rein gezüchtet: Bac. Fränkel, Subtilis, B. coli und Kokken. Die Pökellake sah außergewöhnlich unappetitlich aus und roch widerlich. Sie befand sich ihrer äußeren Beschaffenheit nach im Zustande bakterieller Zersetzung. Wahrscheinlich war die Reinigung des Pökelbottichs ungenügend, so daß eine Beseitigung der Bakterienflora nach jedesmaliger beendeter Pökelung nicht erfolgte. Da viele Bakterien Kochsalzresistent sind (Wachstumshemmung nach Beythien, Hartwich, Klimmer erst zwischen 10—20 Proz.) und möglicherweise diesem Medium gegenüber eine gewisse Adaptionsfähigkeit besitzen, wird sich jede Unsauberkeit im Pökelbetriebe wie im vorliegenden Falle rächen können.

b) Ein von einem Arzt zur Untersuchung geschickter äußerlich einwandfreier „Falscher Hasenbraten". Zwei Erwachsene, die alleine davon gegessen hatten, erkrankten kurze Zeit danach an vorübergehenden heftigen Durchfällen bis 14 Stuhlentleerungen am Tage. Aus dem Innern des großen Bratenstückes wurde lediglich der Putrificus verrucosus gezüchtet. Dieser Fall ist besonders interessant, weil hier nach dem bakteriologischen Befund und dem klinischen Bild nur die „Warze" als Krankheitsursache in Frage zu kommen scheint. Es wäre denkbar, daß sich in dem gehackten Fleisch, aus dem der Braten bereitet wurde, Paratyphus- oder Gärtner-Toxine befunden haben, die genügend hitzebeständig sein können, um die Brattemperatur zu überstehen. Gegen diese Annahme spricht das Krankheitsbild, das mit der charakteristischen Paratyphus- oder Gärtner-Intoxikation keine Aehnlichkeit hatte. Gegen die Annahme, daß bakteriell zersetztes Fleisch zum Herrichten des Bratens benutzt wurde, spricht die sinnlich wahrnehmbar einwandfreie Beschaffenheit des Bratens. Möglich bleibt allenfalls, daß das Fleisch von einem an Sepsis, Pararauschbrand oder sonstwie erkrankten Tiere stammte und daß die betreffenden Bakterien während des Bratens unschädlich gemacht wurden, ihre Stoffwechselgifte aber nicht. Die Möglichkeit, daß solches Fleisch dann auch nach längerem Erhitzen noch gesundheitsschädlich ist und Durchfälle auslösen kann, besteht vielleicht. Es dürfte dieser Falle zu weiteren Forschungen anregen.

c) Krebsschwanzkonserve in einer Glasflasche mit Borsäurekochsalzlösung. Aussehen und Geruch tadellos. Vor Oeffnen des Glases sieht man nach längerem Aufenthalt im warmen Zimmer aus einigen Krebsschwänzen Gasblasen aufsteigen. Aus der konservierenden Flüssigkeit und den Krebsschwänzen wurden gezüchtet: Bac. Fränkel und Subtilis.

d) Vanillensaucenpulver, eingesandt von einem Truppenteil zur Untersuchung, weil nur diejenigen Leute, und zwar sämtliche, welche von der davon angefertigten Sauce gegessen hatten, an Durchfällen erkrankt waren; die übrigen Leute, die die Speise ohne Sauce gegessen hatten, blieben gesund. Gefunden wurde Bac. Fränkel und Subtilis. — Hiernach scheint bei den in der Literatur häufig beschriebenen Vanillevergiftungen, wie von einigen Forschern auch vermutet, die bakterielle Zersetzung eine wichtige Rolle zu spielen, wobei die benutzte Milch von wesentlicher Bedeutung zu sein scheint. Der Fränkel ist für solche Zersetzungsvorgänge besonders geeignet, da seine Fähigkeit, die Milch unter starker Gas- und Buttersäurebildung stürmisch zu verändern, jedem Bakteriologen zur Genüge bekannt ist. Wahrscheinlich werden sich in der mit Milch hergerichteten Vanillesauce ähnliche, äußerlich in-

dessen nicht so wahrnehmbare Vorgänge wie im Milchröhrchen des Laboratoriums abspielen, durch die dann Magendarmstörungen ausgelöst werden. Beachtlich ist, daß der Fränkel in Vanillensaucenpulver gefunden wurde, mit dem er in die Milchsauce gelangte. Man findet bisweilen in der Literatur die Ansicht vertreten, daß sich die schädlichen Anaërobier in der Milch befinden sollen und das Vanillepulver lediglich dank seiner reduzierenden Eigenschaft das Wachstum der Anaërobier in der Milch begünstigt. Fraglos enthält auch die Marktmilch häufig genug den Fränkelschen Gasbazillus. Doch scheint mir die gute Haltbarkeit kurz gekochter oder auch ½ Std. auf 63 ° erhitzter Milch bei mehrtägiger Aufbewahrung in Zimmertemperatur dafür zu sprechen, daß sich in der Milch selten Sporen des Fränkelschen Gasbazillus finden, vielmehr vornehmlich vegetative Formen, die durch das vorgenommene Erhitzen abgetötet werden. — Anders dagegen im Vanillepulver, das zunächst einen schlechten Nährboden für Bakterien darstellt. In ihm werden sich vornehmlich für längere Zeit die Dauerformen der Sporenbildner halten, in diesem Fall die des Fränkel und Sutilis, die ein Erhitzen nach Vermischen des Pulvers mit Milch überstehen, um sich dann unter recht günstigen Bedingungen um so stürmischer zu entwickeln. Wie günstig für sie gerade in großen Küchenbetrieben oft die Lebensbedingungen sind, erhellt daraus, daß derartige Saucen zumeist am Tage zuvor für die nächste Mittagsspeise angefertigt werden, um dann oft in den besonders im Sommer recht warmen Küchenräumen bis zum nächsten Mittag zu stehen, also bisweilen rund 24 Std. Es vereinigt sich also hier ein guter Nährboden (Milch-Vanillezucker) mit einer das Wachstum fördernden Temperatur.

e) Maggi-Erbssuppenwürfel; außen und innen einwandfrei; angeblich schon jahrelang gelagert. Kulturell Bac. subtilis und Kokken.

Maggi-Grünkernwürfel, außen und innen einwandfrei, kulturell aërob nicht untersucht, anaërob Bac. Fränkel. — Nach dem Genuß der von diesen Würfeln angefertigten Suppen war eine Familie an Uebelkeit erkrankt.

Hingewiesen sei auch bei den Fällen c, d und e auf das teils gemeinsame, teils getrennte Vorkommen des Bac. Fränkel und Subtilis, wie wir es bei den Wurstuntersuchungen bereits gesehen haben.

f) Schweinebraten von einem großen Delikateßgeschäft zum Untersuchen geschickt, weil er beim Durchschneiden im Innern grün verfärbt war und übel roch. Das große Schinkenstück wurde angeblich gleich nach der Schlachtung vom Schlachter gekauft und 8 Tage bei — 3 ° im Kühlraum des Delikateßgeschäfts aufbewahrt, um dann sofort gebraten zu werden. Ebersche Fäulnisprobe positiv. Isoliert wurde allein der Putrificus tenuis. Ich zweifle nicht, daß nach dem Genuß des Bratens zu Beginn der Fäulnis, also zu einem Zeitpunkt, wo sie sinnlich so wenig wahrnehmbar war, daß leicht von dem Braten hätte gegessen werden können, ähnliche Krankheitserscheinungen aufgetreten wären wie im Fall b nach Genuß des falschen Hasenbratens zum mindesten Uebelkeit, daß damit also der Bac. putrificus tenuis als Nahrungsmittelvergifter in Erscheinung getreten wäre. So leichte Nahrungsmittelvergiftungen kommen ja aber leider so selten zur Meldung, eine exakte Beweisführung ist deshalb schwer möglich; Tierversuche im Laboratorium können immer nur beschränkten Wert haben, wichtig ist es gerade, von tatsächlich bei Menschen aufgetretenen Nahrungsmittelvergiftungen auszugehen.

g) Eingewecktes, einwandfreies Schweinefleisch. Bakterien nicht nachweisbar.

Zusammenfassung.

1) Nach den Arbeiten Seebergers und Korentschewskys, auf Grund der aus der Literatur bekannten Kasuistik und nach meinen eigenen Untersuchungen können die verschiedensten aëroben und anaëroben Bakterienarten wahrscheinlich durch Stoffwechselgifte Nahrungsmittelvergiftungen leichter bis schwerster Art bedingen. — 2) Unter Berücksichtigung der ätiologischen und klinischen Gesichtspunkte sind zu unterscheiden: Nahrungsmittelvergiftungen und Nahrungsmittelinfektionen. Infektionen enstehen bisweilen sekundär auf dem Boden der Vergiftungen vom Darm aus. — 3) Bei Nahrungsmittelvergiftungen muß stets auch nach sporenbildenden Anaërobiern gefahndet werden; eine Unterlassung dieser Untersuchung bedeutet einen Kunstfehler. — 4) Von einwandfreien Wurstwaren muß verlangt werden, daß sie aërob

und anaërob bebrütet nur eine bestimmte Zahl Bakterienarten enthalten dürfen. Die Zahl bleibt noch festzustellen. — 5) Proteus- und Pararauschbrandbakterien dürfen in einwandfreier Wurst ebensowenig vorkommen wie Angehörige der Paratyphus-Gärtner-Gruppe, da sie durch ihre Stoffwechselgifte besonders schwere Gesundheitsstörungen bewirken können.

Literaturverzeichnis.

1) Kuppelmayr, Zur Kasuistik der Fleischvergiftungen 1913—1922. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1924. H. 16.) — 2) Fleischvergiftungen im Deutschen Reich im Jahre 1923. (Bekanntgeg. durch das Reichsgesundheitsamt.) — 3) Mayer, G., Massenerkrankungen durch Nahrungs- und Genußmittel. (Dtsch. Vierteljahresschr. f. öffentl. Gesundheit. Bd. 45. 1913. S. 8.) — 4) Brekenfeld, Zeitschr. f. Unters. v. Nahrungs- u. Genußmitt. Bd. 48. 1924. H. 2.) — 5) Seeberger, Xaver, Die Wirkung von Extrakten aus infiziertem und nicht infiziertem Fleisch auf den überlebenden Darm. [Inaug. Diss.] Zürich 1918. — 6) Korentschewsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. S. 526. — 7) Metschnikoff, Ann. d'Inst. Pasteur. T. 22. 1908. p. 929. — 8) Ders., Sur les microbes de la putrification. (Compt. Rend. Acad. Scienc. 1908.) — 9) Baerthlein, Münch. med. Wochenschr. 1922. — 10) Dieudonné, Die bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen. Würzburg 1908. — 11) Glücksmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. S. 696. — 12) Schumburg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 41. 1902. — 13) Silberschmidt, Ibid. Bd. 30. — 14) Saltykow, Virch. Arch. Bd. 253. 1924. S. 685. — 15) Pfuhl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. — 16) Klieneberger, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908. — 17) Wesenberg, Ibid. Jhrg. 28. 1901. — 18) Levy, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. Bd. 34. 1894. — 19) Berg, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. Jhrg. 23. 1910. Nr. 15. — 20) Meyerhof, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 24. 1898. Nr. 1, 2, 3, 4, 5. — 21) Wichels u. Barner, Med. Klin. 1925. Nr. 50. — 22) Jakobowitz u. Kayser, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. — 23) Fischer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. — 24) Haibe, Bull. d. l'Acad. Roy. de Méd. de Belg. T. 25. 1911. p. 348. — 25) Brieger u. Kempner, Dtsch. med. Wochenschr. Jhrg. 23. 1897. — 26) Bürger, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Bd. 41. 1911. S. 168. — 27) Moebius, Ibid. Bd. 43. 1912. Suppl. Bd. 1. S. 181. — 28) Ridder Berl. klin. Wochenschr. 1909. Nr. 50. — 29) Dold, Dtsch. med. Wochenschr. 1910. S. 354. — 30) Uhlenhuth u. Hübener, Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 3. — 31) Glaser, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 67. 1910. S. 458. — 32) Poppe, Arch. f. Hyg. Bd. 80. 1913. S. 316. — 3) Leue-Oels, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1925. — 34) Mandel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. S. 194 — 35) Zeiss, Weichardts Ergebnisse. Bd. 5. 1922. — 36) Bischoff u. Brekenfeld, Zeitschr. f. Kinderheilk. 1925. H. 4. — 37) Rolly, Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 37. — 38) Oster, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 40. — 39) Bofinger, Ibid. 1912. S. 152. — 40) Günther, Arch. f. Hyg. Jhrg. 28. 1897. H. 2. — 41) Kallert u. Standfuß, Rubner, v. Gruber u. Ficker, Handb. d. Hyg. Bd. 6. — 42) Wilbur, Arch. of Intern. Med. Vol. 14. 1914. p. 589. — 43) Vaughan u. Perkins, Arch. f. Hyg. Bd. 27. 1896. S. 308. — 44) Vaughan, Ibid. 1887. Nr. 7. — 45) Schneidemühl, Dtsch. med. Wochenschr. 1909. S. 883. — 46) Gutekunst, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Bd. 38. 1909. H. 2. — 47) Jakobsen, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jhrg. 28. 1917/18. — 48) Silberschmidt, Schweiz. med. Wochenschr. 1921. Nr. 1. — 49) Kühl, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 25. 1913. S. 193. — 50) Macauley, H. M. Cameron, Cheese poisoning. — 51) Sammet, Hyg. Rundsch. 1911. Nr. 18. — 52) Weikard, Münch. med. Wochenschr. 1907. S. 1334. — 53) Hübener, Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. Bd. 9. 1912. S. 30. — 54) Trautmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 45. 1903. — 55) Schömmel, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1925. S. 221. — 56) v. Ostertag, Handb. d. Fleischbesch. 1923. — 57) Klimmer, Beythien, Hartwich, Handb. d. Nahrungsmittelunters. Bd. 3. 1920. — 58) Maurell, Compt. Rend. Soc. de Biolog. T. 70. 1911. p. 241. — 59) Ders., Ibid. T. 70. 1911. p. 306. — 60) Bornand, Mitt. Lebensmittelunters. u. Hyg. Bern 1921. S. 119. — 61) W. Müller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. S. 277. — 62) Conradi, Münch. med. Wochenschr. 1909. Nr. 26. — 63) Lange u. Poppe, Arb. a. d. Reichges.-Amt. Bd. 33. 1910. S. 127. — 64) Loris-Mé-

likow, Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 74. 1913. p. 229. — 65) Aderhold, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 5. 1899. S. 17. — 66) Belser, Arch. f. Hyg. Bd. 54. 1905. — 67) Kassowicz, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 48. 1917. S. 41. — 68) Zeissler, Kraus-Uhlenhuth, Handb. d. mikrobiol. Techn. Bd. 2. 1923. — 69) Brekenfeld, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. H. 1/2. — 70) Raßfeld, Bakteriologische Leichenuntersuchungen. (Zeitschr. f. Hyg. 1921.) — 71) Zeißler u. Käckell, Jahrb. f. Kinderheilk. 1922. — 72) Kleinschmidt, Verhandl. d. 35. Vers. d. dt. Ges. f. Kinderheilk. 1924. — 73) Much, Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 621. — 74) Timm, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 34. S. 71. — 75) Heuer, Ibid. Bd. 44. S. 364. — 76) Uhlenhuth, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. H. 4/7.

Bakteriologische Beobachtungen bei Fleischvergiftungen des Menschen.

[Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut des Hauptgesundheitsamts der Stadt Berlin (Prof. Dr. Seligmann).]

Von Dr. **Ernst Pieper**, wissenschaftl. Mitglied.

Die Einsendungen von Untersuchungsmaterial wegen des Verdachtes von Fleischvergiftungen hatten sich im Jahre 1925 gegenüber den Vorjahren bedeutend gesteigert. Auch die Zahl der positiven Befunde hatte absolut und relativ zugenommen. Die weiter unten folgende Zusammenstellung gibt Aufschluß über die Zahl der Fälle, ihre jahreszeitliche Verteilung und die Zusammenhänge mit bestimmten Nahrungsmitteln.

Berücksichtigt sind nur Fälle aus der freien Praxis oder von den Kreisärzten eingesandtes Material von Kranken und ihrer Umgebung, während die Einsendungen von Krankenhäusern bei Durchfallsmassenerkrankungen unberücksichtigt geblieben sind. Derartige Erkrankungen konnten wir ebenfalls mehrfach in bestimmten Krankenanstalten beobachten. Trotzdem das explosionsartige Auftreten und der schnelle Krankheitsablauf eine infektiöse Aetiologie sehr nahe legten, ist es uns nicht gelungen, Krankheitserreger oder ihre Reaktionsprodukte nachzuweisen weder in den Speisen noch in Ausscheidungen oder im Blute der Erkrankten. Die Untersuchungen, die auch mit chemischen und anderen biologischen Methoden auf das intensivste an Ort und Stelle durchgeführt wurden, haben in diesen Fällen zu einem sicheren Ergebnis nicht geführt. Wir konnten uns jedenfalls nicht entschließen, eine zweifellos stark vorhandene Komponente ausschließlich verantwortlich zu machen.

Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht der positiven Befunde bei Fleischvergiftungen in den Jahren 1923—1925 in unserem Institut.

Jahr	Paratyphus B	Bacillus enteritidis Gärtner	Bacillus Voldagsen
1923	9	3	1
1924	18	5	3
1925	27	19	6

Aus dieser Tabelle ist die von Jahr zu Jahr steigende Zahl positiver Befunde ersichtlich, eine Beobachtung, die, wenigstens für Paratyphus B, auch von Weigmann (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.

1925 Monat	Sa. der Einsendungen	Positive Befunde Sa.	Para-ty B	Ent.	Vold.	Der Patienten Stuhl u. Urin	Der Patienten Blut	Schwein	Rind	Gemischtes Schabefleisch	Wurst	Knochen ohne nähere Angaben	Gans	Sonstiges
Januar	5	3	3	.	.	3 (davon positiv 3 Para B)	.	1	.	.	.	.	.	1 Magenspülung
Februar	19	3	.	1	2	16 (davon positiv 1 Ent., 1 Vold.)	.	1 (davon pos. 1 Vold.)	.	.	1	.	1	.
März	4	.	.	.	.	3	.	1	.	.	.	.	.	.
April	6	2	1	.	1	4 (davon positiv 1 Para B)	.	.	.	1 (davon positiv 1 Vold)	1	.	.	.
Mai	25	2	.	1	1	19 (davon positiv 1 Ent., 1 Vold.)	.	.	1	1	2	1	.	1 ganze Mahlzeit
Juni	2	1	.	.	1	1 (davon positiv 1 Vold.)	.	.	1	.	.	.	.	.
Juli	4	2	1	1	.	2 (davon positiv 1 Ent.)	1 (davon positiv 1 Para B)	.	.	.	1	.	.	.
August	8	7	1	5	1	7 (davon positiv 1 Para B, 5 Ent., 1 Vold.)	.	.	.	.	1	.	.	.
Septbr.	18	10	4	6	.	9 (davon positiv 3 Para B, 5 Ent.)	.	1	.	3 (davon positiv 1 Ent.)	.	1	1 (davon positiv 1 Para B)	3 mal Fleisch ohne nähere Angaben
Oktober	28	8	5	3	.	19 (davon positiv 4 Para B, 3 Ent.)	2	1	.	.	1	.	2 (davon positiv 1 Para B)	2 mal Fisch 1 mal Mayonnaise
Novbr.	17	9	8	1	.	7 (davon positiv 6 Para B)	1 (davon positiv 1 Ent.)	1	3	.	2 (davon pos. für Para B 1 Gänseleberw.)	1	1 (davon positiv 1 Para B)	1 mal Kalbfleisch
Dezbr.	13	5	4	1	.	5 (davon positiv 4 Para B, 1 Ent.)	.	2	.	1	3	.	1	1 mal Hühnerfleisch
Summe	149	52	27	19	6	95 (davon positiv 22 Para B, 17 Ent., 4 Vold.)	4 (davon positiv 1 Para B, 1 Ent.)	8 (davon positiv 1 Vold.)	5	6 (davon positiv 1 Vold, 1 Ent.)	12 (davon positiv 1 Para B)	3	6 (davon positiv 3 Para B)	10

Bd. 95. 1925) für Schleswig-Holstein in den letzten Jahren gemacht worden ist.

Ordnen wir nun die Gesamtzahl der wegen Fleischvergiftungen eingesandten Proben nach Zeit, Material und positiven Befunden, so erhalten wir vorstehende Tabelle:

Bei Beurteilung dieser Tabelle kann die Summe aller Einsendungen zusammen für die monatliche Verteilung unberücksichtigt bleiben, da diese Zahl ganz von dem Ermessen des einsendenden Arztes abhängt, je nachdem ob er nur Material vom Kranken selbst oder auch Material aus der Umgebung des Erkrankten einsendet. Wohl aber können die positiven Befunde auch in dieser Hinsicht berücksichtigt werden. Im Gegensatz zu den ersten Monaten des Jahres weisen die letzten fünf Monate eine wesentlich Steigerung auf, insbesondere auffallend erscheint die hohe Zahl der positiven Paratyphus B-Befunde im November. Die Angabe des die Vergiftung verursachenden Nahrungsmittels fehlt vielfach, oft weil der Arzt selbst nicht wußte, welche der genossenen Speisen er verantwortlich machen sollte. Speiseproben sind 49mal übersandt worden, darunter allein 7, die von Gänsen stammten (Herbst und Winter). Es wurden 4mal bei Gänsefleisch Paratyphus B-Bazillen nachgewiesen. Aehnliche Beobachtungen sind in unserem Institute schon vor dem Kriege gemacht worden. Im Oktober und November kamen häufiger nach Genuß von „Spickgänsen“ Paratyphus-Erkrankungen vor. Es wurde damals festgestellt, daß um diese Zeit erhebliche Auftriebe von russischen und galizischen Gänsen nach Deutschland hereinkamen. Leider konnten wir 1925 das Ursprungsland der Gänse nicht mehr nachweisen; nennenswerte Einfuhr der Tiere aus dem Osten bestand aber unseres Wissens nicht. Es wäre immerhin interessant, systematisch Gänse auf Krankheitserreger zu untersuchen, zumal allein bei uns durch 4 Gänse 11 Personen mehr oder weniger heftig erkrankt sind. Die sehr zahlreichen Untersuchungen, die 1909 und 1910 in unserem Institut an normalem Fleisch-, Wurst- usw. Material angestellt wurden, und über die Sobernheim auf der Tagung der Mikrobiolog. Gesellsch. in Berlin 1910 berichtet hat (Centralbl. f. Bakt. Abt. I Ref. Bd. 47. 1910 Beih.), ergaben in 4 von 40 unverdächtigen Spickgansproben den Nachweis von Paratyphus B-Bazillen und damit den bei weitem größten Befund pathogener Keime von über 1000 Untersuchungen verschiedener Fleischwaren. Eine weitere Prüfung dieser Verhältnisse bei Gänsen unter Berücksichtigung ihrer Herkunft und Beschaffenheit erscheint somit notwendig.

Die Zahl der durch Gärtner-Bazillen hervorgerufenen Fleischvergiftungen ist ebenfalls beträchtlich; auch der Befund des ziemlich selten anzutreffenden Bacillus Voldagsen ist relativ häufig erhoben worden. Soweit er in Nahrungsmitteln gefunden wurde, enthielten diese Schweinefleisch.

Da die Voldagsenstämme und Sera sich immunbiologisch wesentlich vom Paratyphus B unterscheiden, erhärten unsere Befunde die Notwendigkeit, bei Fleischvergiftungen wirksame Sera auch dieses Bakterienstammes zur Untersuchung stets mitheranzuziehen.

Die größte Zahl positiver Befunde machte aber der Paratyphus B aus. Damit bot sich uns Gelegenheit, an frischen Stämmen die Unterscheidungsmerkmale kultureller Art zu prüfen, die für die typhöse und die gastroenteritische Wirkungsweise der Paratyphus B-Bazillen charakteristische Unterschiede aufweisen sollen: die Schleimwallbildung

auf der Agarplatte (Müller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925) und das „Rutschen“ der Kolonien auf Gelatineschrägröhrchen (Bitter, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd, 88. 1922). Beide Kennzeichen sollten nur bei Erregern der typhösen Form des Paratyphus beobachtet werden. Wir fanden, daß bei 4 Stämmen eine starke Schleimwallbildung auftrat: ein Stamm wurde aus dem Stuhl und Urin, einer aus dem Stuhl, einer aus dem Urin und einer aus dem Blute des betreffenden Kranken gezüchtet. Leider konnten bei 2 Stämmen keine näheren Angaben über den Krankheitsverlauf ermittelt werden; bei einem Erkrankten bekamen wir den Bescheid: verlief unter dem Bilde eines Typhus abdominalis, bei dem vierten Fall handelte es sich um einen 14tägigen, fieberhaften Durchfall mit nachfolgender Endocarditis. Bei allen anderen Stämmen trat keine Schleimwallbildung auf, sie erzeugten in allen Fällen nur leichte Erkrankungen, die mit Erbrechen, Durchfall und Fieber bis höchstens 39° nach 3—5 Tagen in völlige Genesung übergingen. Diese Befunde bestätigen somit die Angaben der Kieler Schule; wir fanden aber die Schleimwallbildung auch nicht nur auf „Witte-Pepton-Agar“, sondern auch auf Agar mit Peptonen anderer Fabriken und mit dem von uns stets selbst hergestellten Pepton (Versuche, die Dr. v. Gutfeld zahlreich angestellt hat). Ein „Rutschen“ der schleimwallbildenden Kolonien auf Gelatineschrägröhrchen konnten wir trotz genauester Innehaltung der von Bitter verlangten Kulturbedingungen und trotz wiederholter Versuche niemals beobachten: das gleiche negative Ergebnis erzielte Uhlenhuth (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926 Beih.).

Zusammenfassung.

Die Zahl der Fleischvergiftungen mit positivem Untersuchungsergebnis hat in Berlin in den letzten Jahren nicht unerheblich zugenommen. Gefunden wurden vor allem Paratyphus B-Bazillen, daneben Kulturen des Bacillus enteritidis Gärtner und des Bacillus Voldagsen. Die Hauptzahl der positiven Befunde fällt in die Herbst- und Wintermonate. Relativ häufig waren Paratyphusinfektionen durch Gänsefleisch.

Paratyphusstämme, die typhöse Erkrankungen verursacht hatten, zeigten Schleimwallbildung, aber kein „Rutschen“ auf Gelatineschrägröhrchen; Erreger der akuten Gastroenteritis (Paratyphus B) zeigten weder Schleimwallbildung noch „Rutschen“ auf der Gelatine.

Zur Morphologie und Biologie der Stuhlstreptokokken.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin (Direktor: Dr. Kurt Meyer).]

Von **Hertha Schönfeld,** Medizinalpraktikantin.

In seiner Monographie über die Darmbakterien des Säuglings beschrieb Escherich (1) 1886 neben verschiedenen Stäbchen einen Diplokokkus, den er wegen seiner Gestalt „Micrococcus ovalis“ nannte. Eine besondere Bedeutung legte Escherich diesem Kokkus nicht bei.

Später haben Hirsch und Libmann (2, 3) einen Streptococcus enteritidis beschrieben, den sie bei Säuglingsenteritis im Stuhl fanden und den sie auch in Reinkultur züchteten. Dieser Kokkus bildete meist längere Ketten, doch wurde auch das Vorkommen in Diploform beobachtet. Hirsch und Libmann sahen in diesem Kokkus den Erreger bestimmter Arten von Säuglingsenteritits.

Escherich (1) hat dann 1898 noch einmal Diplokokken beschrieben, die nach seiner Ansicht bei Magen- und Darmerkrankungen der Säuglinge eine ätiologische Rolle spielten. Sie glichen Pneumokokken, nur daß ihnen die Kapsel fehlte, und bildeten bisweilen auch Ketten. Escherich nahm ihren Ursprung aus der Milch an und glaubte, daß sie im erkrankten Darm besonders günstige Bedingungen für ihre Vermehrung finden.

Wie Escherich erwähnt, haben bereits Tavel (5) und seine Mitarbeiter das Vorkommen eines Diplococcus intestinalis, den sie bei Säuglingsenteritiden fanden, beschrieben, von dem sie zwei Formen, einen major und einen minor unterschieden. Es handelte sich um einen Diplokokkus von ovaler Form, der offenbar mit dem Micrococcus ovalis identisch war.

Im Gegensatz zu Hirsch, Libmann und Escherich hatte Tavel in diesen Diplokokken einen normalen Bewohner des Darmes vermutet, der sich nur unter pathologischen Bedingungen stark vermehrt.

Unabhängig von Escherich hat 1899 in Frankreich Thiercelin (6) eine Arbeit über einen Diplokokkus des Darmes veröffentlicht. Er beschreibt ihn als einen dem Pneumokokkus ähnlichen Diplokokkus von länglicher bis Lanzettform, der auf Agar in kleinen, transparenten Kolonien wächst und in Bouillon einen weißlichen Bodensatz von schleimiger Konsistenz bildet. Da er ihn bei Fällen von Eiterungen des Darmes und bei membranöser Enteritis fand, glaubte er ihm eine gewisse Rolle bei den pathologischen Prozessen des Darmes zuschreiben zu können. Er nannte ihn wegen seines Sitzes im Darme Enterococcus.

In einer späteren Arbeit hob Thiercelin (7) hervor, daß der Enterococcus häufig unter anaëroben Bedingungen besser gedeihe als bei ungehemmtem Luftzutritt. Er empfiehlt daher, um ihn aus Stühlen zu züchten, von diesen zuerst anaërobe Kulturen anzulegen, und diese dann auf Platten zu überimpfen.

1906 beschrieben die Engländer Andrewes und Horder (8) in einer eingehenden Arbeit über die Klassifikation der Streptokokken, die sie im Anschluß an die Arbeiten M. H. Gordons im wesentlichen auf das Vergärungsvermögen für eine Anzahl von Kohlehydraten stützten, als einen der von ihnen aufgestellten Typen einen Streptokokkus, der besonders durch die Fähigkeit der Mannitvergärung ausgezeichnet war. Da sie diesen Typus hauptsächlich aus Stühlen isoliert hatten, nannten sie ihn Streptococcus faecalis.

Winslow und Palmer (9) prüften auf den von Andrewes und Horder angegebenen Zuckernährböden eine große Zahl von Stämmen aus menschlichen, Rinder- und Pferdefäzes. Unter 116 menschlichen Stuhlstämmen fanden sie Kokken von den von Andrewes und Horder für Streptococcus faecalis als charakteristisch angegebenen Eigenschaften nur in 34 Proz. In gleicher Häufigkeit fanden sie den Streptococcus mitis, während sich der durch Fehlen der

Glukosevergärung ausgezeichnete Streptococcus equinus in 31 Proz. fand.

Fuller und Armstrong (10) kamen bei der Untersuchung von 123 Stämmen aus menschlichen Stühlen zu wesentlich anderen Ergebnissen. 65 Proz. ihrer Stämme spalteten Mannit, verhielten sich also typisch wie Streptococcus faecalis, und nur 30 Proz. waren als Streptococcus mitis anzusprechen.

Von englischen Bakteriologen hat weiterhin Logan (11) 1913 einen Darmkokkus beschrieben, den er in Stühlen darmgesunder Kinder fand und den er mit dem von Thiercelin beschriebenen Enterococcus für identisch hielt. Es handelte sich um einen Diplokokkus, bei dem in flüssigen Nährmedien auch Kettenbildung beobachtet wurde, der grampositiv war, aber keine Kapsel besaß, auf Blutagar in kleinen, Tautropfen ähnlichen Kolonien wuchs und in Bouillon eine Trübung mit dichtem Bodensatz hervorrief. Dieser Kokkus war pathogen für weiße Mäuse, nicht aber für Meerschweinchen.

In Deutschland hat 1913 Schmitz (12) unter Hinweis auf die französischen Arbeiten die Aufmerksamkeit auf den Enterococcus zu lenken versucht und eine eingehende Beschreibung von ihm gegeben. Er fand ihn unter 3530 Untersuchungsproben der verschiedensten Art nur 15mal, und zwar 6mal in pathologischen Stühlen, 2mal in der Gallenblase, 1mal im Harn, 4mal im Eiter, 1mal in einem Douglasexsudat und 1mal im Blut bei Sepsis. In normalen Stühlen fand er ihn niemals. Schmitz hebt vor allem die Polymorphie der Enterokokken hervor. Seine Stämme brachten Milch nicht zur Gerinnung, zersetzten keine Zuckerarten und brachten auf Blutagar nie Hämolyse hervor. Im Tierversuch erwiesen sie sich als nicht pathogen.

Houston und Mc. Cloy (13) gaben anläßlich ihrer Untersuchungen über das Schützengrabenfieber eine Beschreibung des von ihnen häufig aus Urin, gelegentlich auch aus Blut und aus Eiter gezüchteten Enterococcus, die im wesentlichen den früheren Angaben entspricht, betonen aber, daß Mannit von ihm nicht gespalten wird. Als besonderes Merkmal heben sie zum erstenmal die Hitzebeständigkeit des Enterococcus hervor. Die von ihnen angelegten Bouillonkulturen vertrugen eine $1^1/_2$stünd. Erwärmung auf 55^0. Sie bauen auf dieser Eigenschaft eine Methode zur Isolierung des Enterococcus auf: Das zu untersuchende Material wird auf Bouillon verimpft, bei 37^0 24 Std. lang bebrütet und diese Kultur $^1/_2$—$1^1/_2$ Std. auf 55^0 erhitzt; dann wird auf Drigalski-Platten überimpft, auf denen sich vorwiegend Enterokokkenkolonien entwickeln sollen.

Auf eine andere wichtige Eigenschaft des Enterococcus wies Weissenbach (14) hin. Er fand, daß der Enterococcus in Galle-Peptonwasser eine üppige Entwicklung zeigte, während Streptococcus viridans und haemolyticus nicht darin wuchsen.

1920 hat Oppenheim (15) 323 Streptokokkenstämme aus Stühlen gezüchtet und fand als besonderes Charakteristikum die Fähigkeit der Mannitvergärung und das Wachstum in Form von länglichen Diplokokken. Er hebt aber hervor, daß sowohl der Ausfall der Mannitprobe wie die Morphologie von der Art des Nährbodens abhängig sei. In alkalischer Bouillon trete die Neigung zur Bildung von Ketten, die aus ausgesprochen runden Kokken bestehen, hervor. In diarrhoischen Stühlen wurden Mannit vergärende Stämme wesentlich seltener gefunden, doch war auch das Spaltungsvermögen dieser Stämme für

andere Kohlehydrate herabgesetzt, so daß Verf. die Frage, ob es sich hier um Diplokokken aus der Mundhöhle, die den Darm passiert hatten, oder um geschädigte Fäkalstreptokokken handelt, offen läßt.

Eine sehr eingehende Untersuchung hat Dible (16) dem Enterococcus gewidmet. Er untersuchte 152 Stämme, die aus normalen Stühlen gezüchtet waren, und zwar prüfte er unter anderem auch das Vergärungsvermögen für Mannit, Inulin, Raffinose und andere Kohlehydrate, und ferner auf Gelatineverflüssigung Gallelöslichkeit, Verhalten auf Blutnährböden und Widerstandsfähigkeit gegenüber Erhitzen auf 60° C.

Als besonders charakteristische Eigenschaften des Enterococcus ergaben sich die Mannitvergärung, die Thermoresistenz und das Wachstum in Diploform. Diese drei Eigenschaften waren besonders häufig miteinander vergesellschaftet. Andererseits fanden sich eine Reihe von Stämmen, die nicht Mannit, dagegen Raffinose und Inulin zersetzten, in Ketten wuchsen und nicht hitzebeständig waren. Nach ihren Eigenschaften glaubt Dible, diese Stämme als Streptococcus salivarius und Streptococcus mitis ansehen zu sollen und nimmt an, daß sie aus dem Rachen stammen und die Darmpassage überlebt haben.

Von 75 Mannitvergärern waren 72 hitzeresistent. Umgekehrt zersetzten von 89 thermoresistenten Stämmen 72 Mannit und die restlichen 17 vergoren nicht Raffinose und Inulin, verhielten sich also in dieser Beziehung wie die mannitvergärenden Stämme. Der Mannitvergärung schreibt Dible nicht eine so entscheidende Rolle zu wie Andrewes und Horder. Er glaubt, daß diese Eigenschaft gelegentlich fehlen kann (Defekttypus), dagegen scheine die Hitzeresistenz ein obligates und nur den Enterokokken zukommendes Merkmal zu sein, da eine große Anzahl von Streptococcus haemolyticus-Stämmen, sowie 14 aus Speichel gezüchtete Stämme von Streptococcus salivarius schon durch 5 Min. langes Erhitzen auf 60° abgetötet wurden. Vom Streptococcus enteritidis von Hirsch und Libmann nimmt Dible wegen der stark ausgesprochenen Neigung zur Kettenbildung an, daß es sich um Streptococcus salivarius gehandelt habe.

Hervorhebung verdient weiter eine Angabe von Rochaix (14), nach der der Enterococcus die von Harrison und Vanderleck (18) angegebenen Aeskulinnährboden zersetzen soll, während Streptococcus haemolyticus und meist auch Streptococcus viridans sie unverändert lassen.

Aus einer kürzlich erschienenen Monographie des Dänen Bagger (10), der seinen Untersuchungen außer 92 Stämmen aus Appendicitis- und Peritonitisfällen auch 48 Stämme aus normalen Därmen zugrundelegte, sind besonders die sorgfältigen Untersuchungen über die Thermoresistenz hervorzuheben. Bagger fand, daß 100 Proz. aller Stämme sich 1 Std. auf 56° C erhitzen lassen, 95,33 Proz. eine Temperatur von 60° überstehen, 66,6 Proz. bei 62°, 41,3 Proz. bei 63° und 2,7 Proz. selbst bei einer Temperatur von 65° noch am Leben bleiben. Von den umfangreichen Vergärungsversuchen mit 33 verschiedenen Kohlehydraten sei erwähnt, daß sämtliche Stämme neben anderen Zuckerarten auch Mannit spalteten, während nur 10,7 Proz. Raffinose vergoren.

Was die pathogene Bedeutung des Enterococcus betrifft,

so ist diese von den Franzosen seit den ersten Arbeiten Thiercelins immer anerkannt worden, und es finden sich in der französischen Literatur zahlreiche Einzelangaben über Enterokokkeninfektionen. In dem Handbuch der Medizin von Widal, Roger und Tissier ist der „Enterokokkie" ein eigenes von Macaigne verfaßtes Kapitel gewidmet.

In Deutschland findet er sich dagegen, abgesehen von der Arbeit von Schmitz, fast nur als harmloser Darmbewohner erwähnt. Die Bedeutung, die ihm von der Escherichschen Schule als primärer Erreger von Säuglingsenteritiden beigelegt wurde, wird von der großen Mehrzahl der Pädiater heute nicht mehr anerkannt.

Erst neuerdings hat Kurt Meyer (19) darauf hingewiesen, daß dem Enterococcus eine wesentliche Rolle als Krankheitserreger zukommt. Er fand ihn in einer großen Zahl von Fällen als einzigen Erreger bei mit dem Darmkanal in Zusammenhang stehenden Eiterungsprozessen (Appendizitis, Periproctitis etc.), ferner bei Cystitiden und Pyelitiden und besonders häufig bei Infektionen der Gallenwege (44.5 Proz. der Fälle mit positivem bakteriologischen Befund), für die er ihm eine ähnliche Bedeutung beimißt, wie dem Bacterium coli.

* * *

Wie aus vorstehend gegebenem Auszug aus der Literatur hervorgeht, bestehen noch mancherlei Widersprüche hinsichtlich der Eigenschaften der Enterokokken. Da aber im Hinblick auf die pathogene Bedeutung des Enterococcus eine genaue Kenntnis seiner Eigenschaften auch von erheblicher praktisch-diagnostischer Bedeutung ist, so suchten wir an 60 aus Stuhl gezüchteten, also sicheren Enterokokkenstämmen noch einmal solche Merkmale festzustellen, die für die Identifizierung des Enterococcus und seine Differenzierung von anderen Streptokokkentypen von Bedeutung sein können.

Wir richten unser Augenmerk auf die Morphologie, ferner auf das Wachstum auf Blutagarplatten und in Bouillon, des weiteren auf das Verhalten gegenüber denjenigen beiden Zuckerarten, die nach den Angaben der Literatur für die Differenzierung des Enterococcus besonders in Frage kommen, nämlich Mannit und Raffinose; auf Säurebildung prüften wir im Hissschen Nährboden (1 Teil Rinderserum + 2 Teile Aqua dest. + 1 Proz. Kohlehydrat — 7 Proz. Lackmustinktur).

Wegen der nahen Beziehungen des Enterococcus zum Streptococcus lacticus untersuchten wir weiter das Verhalten der Stämme gegen Lackmusmilch, auf das Heim (21) als Merkmal zur Unterscheidung des Milchsäurestreptococcus von anderen Streptokokken hingewiesen hat. Heim gibt an, daß Streptococcus lacticus eine Gerinnung mit gleichzeitig elfenbeinweißer Entfärbung der Lackmusmilch bewirkt, an die sich erst weiterhin eine von oben nach unten fortschreitende Rötung anschließt. Bei allen anderen Streptokokken will Heim entweder gar keine Veränderung oder eine sofortige Rötung der Lackmusmilch bemerkt haben.

Mit Rücksicht auf die oben erwähnten Angaben von Rochaix prüften wir ferner das Verhalten auf dem von Harrison und Vanderleck angegebenen Aeskulinnährboden, der folgende Zusammensetzung hat: 1,5 g Pepton, 0,5 g Natr. taurochol., 0,1 g Aeskulin, 0,05 g Ferrizitrat auf 100 ccm Wasser.

Enterokokken haben die Eigenschaft, das Aeskulin in Aeskuletin

und Traubenzucker zu spalten. Das Aeskuletin bildet mit dem Eisenzitrat einen schwarzen Farbstoff, so daß sich die Kultur schwarz färbt.

Es wurde außerdem das Verhalten in Traubenzucker-Galle-Peptonwasser nach Weissenbach (4 Proz. Pepton, 0,2 Proz. Traubenzucker und 10 Proz. Rindergalle) und die Fähigkeit der Gelatineverflüssigung geprüft.

Endlich untersuchten wir unsere Stämme auf Hitzebeständigkeit. Zu diesem Zwecke wurden 24stünd. Bouillonkulturen in Kapillarpipetten aufgezogen, in ein Wasserbad von 60° versenkt und nach $^1/_4$ und $^1/_2$ Std. auf Blutagarplatten abgeimpft.

Zur Züchtung des Enterococcus dienten uns hauptsächlich normale, gelegentlich auch pathologische Stühle. Die Stühle wurden zunächst auf Blut- und Endoplatten überimpft. Da nach den Erfahrungen Dibles die Züchtung über anaërobe Nährböden bessere Resultate ergeben soll, so verimpften wir eine Anzahl von Stühlen auf Organbouillon nach Tarozzi und legten danach Unterkulturen auf Platten an. Eine Vermehrung der Enterokokkenkolonien wurde dadurch jedoch nicht erzielt. Die Züchtung des Enterococcus gelang uns bei etwa 85 Proz. der Stühle, wobei ein Unterschied zwischen normalen und pathologischen Stühlen, solchen von Säuglingen und von Erwachsenen nicht hervortrat.

In der folgenden Tab. I (S.394/397) sind unsere Befunde zusammengestellt.

Morphologisch zeigten die Enterokokken eine große Mannigfaltigkeit. Auf Präparaten von Blutagarplatten war eine Lagerung in Ketten oder Paaren nur sehr selten zu erkennen. Meist bildeten die Kokken unregelmäßige Haufen. Die Form der Kokken war häufig oval oder lanzettförmig, so daß auch in den Haufen noch eine Unterschied von Staphylokokken zu erkennen war. Gar nicht selten aber waren die Kokken rund und glichen völlig Staphylokokken.

In flüssigen Nährböden trat die Anordnung in Paaren meist deutlich hervor. Gelegentlich waren aber auch hier mehr unregelmäßige Haufen vorhanden, und einzelne Stämme bildeten lange Ketten. Die ovale Form war in den flüssigen Nährböden deutlicher ausgeprägt, doch waren auch hier bei einer Reihe von Stämmen nur runde Kokken zu sehen. Die Größe der einzelnen Kokken war bei den verschiedenen Stämmen sehr ungleich. Auch in der Kultur ein und desselben Stammes war vielfach die Größe der Einzelkokken sehr verschieden, und überhaupt war bei vielen Stämmen die Polymorphie, das Vorhandensein sehr verschiedenartig aussehender Formen deutlich ausgesprochen. Bisweilen hatten die Kokken fast stäbchenförmige Gestalt und erinnerten an Pseudodiphtheriebazillen. Nicht selten waren Riesenformen zu sehen.

Auf der Blutplatte zeigten sich mannigfache Unterschiede im Aussehen der Kulturen. Die Größe der Kolonien wechselte von kaum sichtbaren bis zu etwa 1,5 mm großen Kolonien. Die meisten Stämme zeigten eine mehr oder weniger grauweiße bis schiefergraue Eigenfarbe, während ganz farblose nur vereinzelt beobachtet wurden. Eine gewisse Neigung zu konfluieren war häufig vorhanden. Bisweilen zeigten die Kolonien leicht schleimigen Charakter und waren beim Abimpfen etwas fadenziehend. In einigen Fällen beobachteten wir trockenere Kolonien.

Die große Mehrzahl der Stämme bewirkte eine Veränderung des Nährbodens im Sinne einer Grün- bis Schwarzfärbung durch

Tabelle I.

Stamm Nr.	Ausstrichpräparat von Bouillonkulturen	Ausstrichpräparat von Blutagarkulturen	Aussehen der Bouillon-kulturen	Aussehen der Blutagar-kulturen	Mannit	Raffinose	Aeskulin	Thermo-resistenz	Galle-Pepton-wasser-wachstum	Gelatinever-flüssigung	Verhalten in Lackmus-milch[1])
1	Haufen, Diploformen, Kokken mittelgroß, rund	Haufen, runde mittelgroße Kokken	trübe, mäßiger Bodensatz	Hämolyse	—	—	+	+ $^1/_2$ Std.	+	—	+ Entfärbg. mit allmähl. fortschreit. Rötg.
2	Diploformen, mittelgroß, rund	Diploformen, mittelgroß, rund	dgl.	hellgrau, konfluierend	+	—	+	+ „	+	—	+ sofortige Rötung
3	dgl.	dgl.	„	dgl.	+	+	+	+ „	+	—	+ dgl.
4	Diploformen, Haufen, kurze Ketten: klein, rund	„	„	„	+	—	+	+ „	+	—	+ „
5	dgl.	„	klar, flockig	„	+	—	+	+ „	+	—	+ Entfärb. mit allm. fortschr. Rötung
6	Diploformen, mittelgroß, rund	„	trübe, mäßiger Bodensatz	„	+	—	+	+ „	+	—	+ dgl.
7	Ketten aus längl. Kokken	Diploformen, runde größere Kokken	trübe, reichlich. schleimig. Bodensatz	kleine Einzelkolonien schiefergrau	+	—	+	+ „	+	—	+ sofortige Rötung
8	Diploformen, klein, rundlich	Haufen, mittelgroß, rund	trübe, mäßiger Bodensatz	dgl.	+	—	+	+ „	+	—	+ dgl.
9	Diploformen: klein, rund u. größere Lanzettformen	Diploformen, dichte Haufen, rund, mittelgroß	dgl.	„	—	—	+	+ „	+	—	—
10	Haufen, Ketten, variable Größe, Lanzettformen	Diploformen, klein, rund	„	Hellgrau, konfluierend	—	—	+	—	+	—	—
11	Haufen, Diploformen, variable Größe, Lanzettformen	Diploformen, Haufen, mittelgroß, rund	„	dgl.	—	—	+	—	+	—	+ sofortige Rötung
12	Diploformen u. kurze Ketten, längl. u. Lanzettformen	Haufen, mittelgroß, rund	„	„	+	—	+	+ $^1/_2$ Std.	+	—	+ Entfärb. mit allmählicher Rötung

[1]) Das +-Zeichen zeigt Rötung und Gerinnung an.

13	Diploformen und Ketten, rundlich	Diploformen, mittelgroß, rund	dgl.	hellgrau, konfluierend	+	—	+	+ ½ Std.	+	—	+ sofortige Rötung
14	Diploformen, kurze Ketten, mittelgroß, rundlich	Diploformen, klein, rund	„	dgl.	—	+	+	+ dgl.	+	—	+ dgl.
15	dgl.	Haufen, mittelgroß, rund	„	kleine, grünliche Einzelkolonien	+	—	+	+ „	+	—	+ Entfärb. mit allmähl. Rötg.
16	Haufen und längere Ketten, mittelgroß, rundlich	dgl.	„	dgl.	—	—	+	+ „	+	—	+ sofortige Rötung
17	Diploformen, Haufen, kurze Ketten, mittelgroß, rundl.	„	klar, flockig	schiefergrau, konfluierend	—	—	+	+ „	+	—	+ dgl.
18	Diploformen, kurze Ketten, mittelgroß, rundlich	„	dgl.	sofortige Hämolyse	+	—	+	+ „	+	—	+ „
19	Ketten, sehr klein, rundlich	Haufen, Diploformen, kurze Ketten, rund, mittelgroß	trübe, mäßiger Bodensatz	grau, konfluierend	—	—	+	+ „	+	—	+ Entfärb. mit allmähl. Rötg.
20	Kurze Ketten, Diploformen, mittelgroß, rundlich	Diploformen, kurze Ketten, mittelgroß, rund	dgl.	kleine, graue Einzelkolonien	+	—	(?)	—	+	—	+ sofortige Rötung
21	Diploformen, Ketten, sehr klein, rund	Haufen, kurze Ketten, mittelgroß, rundlich	„	schiefergrau, konfluierend	—	—	+	+ ½ Std	+	—	+ dgl.
22	Diploformen, Ketten, klein, rund	Haufen, Diploformen, mittelgroß, rundlich	„	grünlich, konfluierend	—	—	(?)	+ ¼ Std.	+	—	+ „
23	Diploformen, kleine Lanzettformen	dgl.	„	dgl.	+	+	+	—	+	—	+ „
24	Lange Ketten aus längl. Kokken	„	„	grau, konfluierend	+	+	+	—	+	—	+ „
25	Diploformen, Haufen, groß, rund	Haufen, mittelgroß, rundlich	„	dgl.	+	+	+	+ ½ Std.	+	—	+ Entfärb. mit allmähl. Rötg.
26	Haufen, Diploformen, kurze Ketten, mittelgroß, rund	dgl.	„	starke Vergrünung des Nährbod., konfl.	+	—	+	+ dgl.	+	—	+ dgl.
27	Diploformen, mittelgroße Lanzettformen	„	„	dgl.	+	—	+	—	+	—	+ „
28	dgl.	Diploformen, Haufen, mittelgroß, rund	„	grau, konfluierend	—	+	+	—	+	—	+ sofortige Rötung
29	Ketten aus kleinen, runden Kokken	dgl.	„	dgl.	—		+	+ ¼ Std.	+	—	+ dgl.
30	Diploformen, Ketten, längl.	Haufen, mittelgroß, rund	„	grünl., mittelgr. Einzelkolonien	—	—	+	+ dgl.	+	—	+ „

Tabelle I (Fortsetzung).

Stamm Nr.	Ausstrichpräparat von Bouillonkulturen	Ausstrichpräparat von Blutagarkulturen	Aussehen der Bouillon-kulturen	Aussehen der Blutagar-kulturen	Mannit	Raffinose	Aeskulin	Thermo-resistenz	Galle-Pepton-wasser-wachstum	Gelatinever-flüssigung	Verhalten in Lackmus-milch
31	Diploformen, Ketten, längl.	Diploformen, Haufen, rund	klar, flockig	sehr kleine, graue Einzel-kolonien	+	—	+	+ 1/2 Std.	+	—	+ sofortige Rötung
32	Diploformen, lanzettförmig	dgl.	trübe, mäßiger Bodensatz	dgl.	—	—	+	—	+	—	+ dgl.
33	Haufen, Diploformen, mittelgroß, rund	Diploformen, rund	dgl.	„	+	+	+	+ 1/2 Std.	+	—	+ „
34	Diploformen, Ketten, klein, rund	Haufen, rund	„	„	+	+	+	+ dgl.	+	—	+ „
35	Haufen, Diploformen, länglich	Diploformen, rund	„	„	—	+	+	+ 1/4 „	+	—	+ Entfärbung mit allmählicher Rötung
36	Diploformen, klein, rund und lanzettförmig	dgl.	„	„	—	+	+		+	—	+ dgl.
37	Ketten, rund	Haufen, rund	„	„	+	+	+	+ 1/2 Std.	+	—	+ „
38	dgl.	Diploformen, Haufen, rund	„	grüne, kleine Einzelkolonien	+	—	+	+ dgl.	+	—	+ „
39	Diploformen, kurze Ketten, oval	dgl.	„	grau, konfluierend	+	—	+	+ „	+	—	+ sofortige Rötung
40	Diploformen, groß, zum Teil oval	Haufen, kurze Ketten, länglich	„	dgl.	—	—	+	+ „	+	—	+ dgl.
41	Diploformen, oval	Diploformen, länglich	„	„	+	—	+	+ „	+	—	+ Entfärbung mit allmählicher Rötung
42	Ketten, oval und elliptisch	Haufen, lanzettförmig	„	„	—	—	+	+ „	+	—	+ dgl.
43	Diploformen, Ketten, elliptisch und oval	dgl.	„	Hämolyse	—	—	+	+ „	+	—	+ „

44	Diploformen, rundlich, mittelgroß	dgl.	dgl.	Hämolyse	—	—	+	+ ½ Std.	+	—	+ dgl.
45	Diploformen, groß, rund	„	„	grünlich, konfluierend	+	—	+	+ „	+	—	+ „
46	Diploformen, oval	„	„	grau, konfluierend	+	—	+	+ „	+	—	+ „
47	Diploformen, Ketten, oval	„	„	grüne Einzelkolonien	+	—	+	—	+	—	+ sofortige Rötung
48	dgl.	Diploformen, Haufen, oval	„	grünlich, konfluierend	—	—	+	+ „	+	—	+ dgl.
49	„	Haufen, rund, mittelgroß	„	grau, konfluierend	+	+	+	+ „	+	—	+ „
50	Diploformen, klein, lanzettförmig	Haufen, klein, lanzettförmig	„	dgl.	+	+	+	+ „	+	—	+ „
51	Diploformen, kurze Ketten, lanzettförmig	Diploformen, lanzettförmig	„	„	+	+	+	—	+	—	+ „
52	dgl.	dgl.	„	„	+	—	(?)	—	+	—	+ „
53	Lange Ketten, lanzettförmig	„	„	grünlich, konfluierend	—	—	—	+ ½ Std.	+	—	+ „
54	Diploformen, lanzettförmig	„	„	dgl.	—	—	—	—	+	—	+ „
55	Ketten, lanzettförmig	„	„	grau, konfluierend	+	—	+	+ ¼ Std.	+	—	+ „
56	sehr lange Ketten	Diploformen, kurze Ketten, lanzettförmig	„	kleine, transparente Kolonien	+	—	—(?)[1]	+ ½ Std.	+	—	+ „
57	Diploformen, elliptisch, lanzettförmig	Haufen, lanzettförmig	„	dgl.	+	—	+	+ dgl.	+	—	+ „
58	dgl.	Diploformen, Lanzettformen	„	schiefergrau, konfluierend	+	—	+	+ „	+	—	+ „
59	„	Haufen, mittelgroß, rund	„	dgl.	—	—	+	+ ¼ Std.	+	—	+ „
60	Diploformen, kurze Ketten, oval und lanzettförmig	Ketten, Diploformen, lanzettförmig	„	„	+	—	+	+ dgl.	+	—	+ „

1) Die Stämme 20, 22, 52, 54, 56 waren bei der zweiten Prüfung auf Aeskulin abgestorben (vgl. Text).

Bildung von Methämoglobin, wie beim Pneumococcus und Streptococcus viridans. Diese Veränderung des Nährbodens war verschieden stark ausgesprochen, so daß bald mehr die Grünfärbung, bald die Eigenfarbe der Kolonien hervortrat, die Kolonie also mehr grau oder mehr grün erschien.

Ein Stamm zeigte von vornherein stark hämolytisches Wachstum, während bei 3 weiteren Stämmen erst nach zweimaligem Ueberimpfen von Blutplatte zu Blutplatte Hämolyse auftrat.

Bouillonkulturen zeigten mit Ausnahme von 4 Fällen nach 24 Std. diffuse Trübung mit mäßigem Bodensatz. Selbst bei Lupenbetrachtung war keine Flockenbildung zu erkennen. Nach weiteren 2—3 Tagen konnte man eine leichte Klärung der Bouillon bemerken, der Bodensatz war stärker geworden und hob sich beim Schütteln als schleimiger Faden in die Höhe. In älteren Kulturen folgte beim Abimpfen der ganze Bodensatz als zusammenhängende Masse der Oese. — Die oben als Ausnahme erwähnten 4 Stämme wuchsen als krümeliger Bodensatz und ließen die Bouillon klar.

Bezüglich des Verhaltens der Stämme gegenüber Zuckerarten konnten wir feststellen, daß 14 Stämme, also 23. 33 Proz., Raffinose, 37 Stämme = 61,66 Proz., Mannit spalten. 10 Stämme, d. h. 16,66 Proz., zersetzten sowohl Mannit wie Raffinose.

Die Säurebildung ging in der Regel langsam vor sich, in einzelnen Fällen konnte man erst in 1—$1^1/_2$ Wochen das positive Resultat erkennen; nur recht wenige Stämme zeigten schon nach 24 Std. ausgesprochene Säurebildung.

In Lackmusmilch bewirkten 5 Stämme keinerlei Veränderung des Nährbodens, 18 Stämme veränderten die Lackmusmilch in der von Heim für Streptococcus lacticus als typisch beschriebenen Weise, d. h. nach 24 Std. war die Milch geronnen und bis auf einen roten Saum am oberen Rande völlig entfärbt. Die Rötung schritt allmählich nach unten zu fort. Alle übrigen Stämme bewirkten lediglich Gerinnung und sofortige Rötung der Lackmusmilch ohne vorausgehende Entfärbung.

Auf dem Aeskulinnährboden wurde zunächst bei 48, d. h. 80 Proz. aller Stämme Schwärzung beobachtet. Bei einer nochmaligen Durchprüfung der übrigen 12 Stämme nach einigen Wochen zeigte sich, daß 5 Stämme bereits abgestorben waren, während von den noch lebenden 7 Stämmen nunmehr 6 ebenfalls Aeskulin spalteten.

Von den 60 Kulturen waren 14 = 23,3 Proz. thermolabil, d. h. sie wurden schon durch 15 Min. langes Erhitzen auf 60 abgetötet. 46 = 76,7 Proz. ertrugen eine Erhitzung auf 60° $^1/_4$ Std. lang, 39 = 65 Proz. $^1/_2$ Std. lang.

In 20 Proz. Galle-Peptonwasser wuchsen alle Stämme üppig. — Gelatine wurde von keinem der Stämme verflüssigt.

In der nachfolgenden Tabelle haben wir noch einmal zusammengestellt, wie häufig die verschiedenen Eigenschaften vertreten und wie oft sie miteinander vergesellschaftet waren. (S. Tab. II, S. 399.)

Es fragt sich nun, ob sich auf Grund der von uns festgestellten Eigenschaften die im Stuhl vorkommenden Streptokokken, also die Enterokokken im eigentlichen Sinne, als eine einheitliche Gruppe mit charakteristischen Merkmalen, die eine Unterscheidung von anderen Streptokokkentypen ermöglichen, umgrenzen lassen. Als charakteristisch für einen Typ werden wir ein Merkmal ansehen dürfen, wenn es regelmäßig bei diesem Typus angetroffen wird und wenn es andererseits

Tabelle II.

	Aeskulin-spaltung	Mannit-spaltung	Raffinose-vergärung	Thermo-resistenz	Thermo-labilität
Gesamtzahl der Stämme	54 (von 55)	37	14	46	14
Aeskulinspaltende	.	34	14	43	12
Mannitvergärer	34	.	10	28	9
Raffinosevergärer	14	10	.	19	5
Thermoresistente Stämme	43	28	19	.	.
Thermolabile Stämme	12	9	5	.	.

anderen Typen nicht oder nur ausnahmsweise zukommt. Haben sich nun aus unseren Untersuchungen solche Merkmale ergeben?

Hier erscheint in erster Linie von Bedeutung die Fähigkeit der Stuhlstreptokokken, Aeskulin zu spalten. Mit einer Ausnahme (Nr. 53) haben alle unsere Stämme diese Eigenschaft gezeigt. Wie aus Untersuchungen von K. Meyer und H. Schönfeld (22), die in der anschließenden Arbeit veröffentlicht werden, hervorgeht, zeigen der Streptococcus haemolyticus und der Streptococcus viridans die Eigenschaft der Aeskulinspaltung nur ganz ausnahmsweise, so daß diese Fähigkeit in der Tat ein sehr charakteristisches Merkmal der Enterokokken bildet.

Als charakteristisch angesehen werden muß auch die Fähigkeit, in 20proz. Galle-Peptonwasser zu wachsen, die unsere Stämme sämtlich zeigten. Andere Streptokokken lassen diese Eigenschaft nach den Beobachtungen von K. Meyer und H. Schönfeld zwar nicht stets, wie Weissenbach angab, aber doch in der großen Mehrzahl der Fälle vermissen.

Das Verhalten in Lackmusmilch bietet keine Anhaltspunkte zur Charakterisierung der Enterokokken.

Das Wachstum auf der Blutplatte ist nicht so charakteristisch, daß es für sich allein eine Unterscheidung vom Streptococcus viridans ermöglicht. Immerhin wird man bei grauweißer Eigenfarbe vermuten dürfen, daß es sich um Enterokokken handelt.

Recht charakteristisch ist dagegen wieder das Wachstum in Bouillon. Die große Mehrzahl der Stämme trübt die Bouillon diffus, so daß auch bei Lupenbetrachtung keine Flockenbildung zu erkennen ist. Bei Streptococcus viridans wird ein solches homogenes Wachstum nur selten beobachtet.

Gelatineverflüssigung ist offenbar eine Eigenschaft, die den Stuhlenterokokken nur sehr selten zukommt, da wir sie bei keinem unserer Stämme feststellen konnten.

Die Fähigkeit der Mannitvergärung ist, wenn vorhanden, zwar ebenfalls ein wertvolles Merkmal zur Identifizierung der Enterokokken, kommt aber dem der Aeskulinspaltung an Bedeutung nicht gleich. Einmal ist es nach unseren Beobachtungen, die denen von Fuller und Armstrong, Oppenheim und Dible entsprechen, nur bei 61.66 Proz. der Stämme vorhanden, und andererseits ist es bekannt, daß gelegentlich, wenn auch selten, andere Streptokokkentypen diese Eigenschaft ebenfalls zeigen können.

Daß das Fehlen der Mannitvergärung die Enterokokkennatur nicht ausschließt, ergibt sich daraus, daß alle 23 Mannit nicht vergärenden Stämme mit der bereits erwähnten Ausnahme die charakteristische Aeskulinspaltung zeigten und daß 18 von diesen Stämmen thermoresistent waren.

Ein weiteres sehr charakteristisches Merkmal der Enterokokken ist ihre Thermoresistenz. Allerdings fanden wir sie nicht in gleicher Häufigkeit wie Bagger, der 95 Proz. seiner Stämme 1stünd. Erhitzen auf 60° überleben sah, während wir das gleiche nur bei 70 Proz. beobachteten. Hierbei ist jedoch zu beachten, daß Schwankungen um die Breite eines Grades, die auch in einem Wasserbad mit empfindlichem Thermoregulator nicht immer auszuschließen sind, nach den Beobachtungen Baggers das Ergebnis bereits merkbar beeinflussen können. Ist das Merkmal der Thermoresistenz schon wegen seiner Häufigkeit von Bedeutung, so wird es dadurch noch wertvoller, daß es, wie K. Meyer und H. Schönfeld in Bestätigung der Angaben von Dible und Bagger feststellen konnten, ähnlich wie die Aeskulinspaltung anderen Streptokokkentypen nur ausnahmsweise zukommt.

Der morphologische Charakter der Stuhlenterokokken erscheint weniger einheitlich und charakteristisch. Zwar zeigte ein großer Teil der Stämme die für Enterokokken als typisch beschriebene ovale oder lanzettförmige Gestalt und Anordnung in Diploformen, doch hatte eine nicht geringe Zahl von Stämmen eine runde Gestalt, und auch das Vorkommen von mehr oder weniger langen Ketten war nicht selten zu verzeichnen.

Das Fehlen des Raffinosevergärungsvermögens, das von vielen Autoren als wesentliches Merkmal der Enterokokken angesehen wird, konnten wir für die Mehrzahl unserer Stämme bestätigen; immerhin spalteten 19 unserer Stämme Raffinose. Da sie aber sämtlich auch Aeskulin zersetzten, außerdem bis auf 2 Stämme thermoresistent waren oder Mannit vergoren oder beide Eigenschaften zeigten, so glauben wir auch in ihnen Enterokokken sehen zu dürfen, und wir möchten daher das Fehlen der Raffinosevergärung nicht als obligates Merkmal des Enterococcus ansehen.

Damit kommen wir zur Erörterung der Frage, ob die Stuhlstreptokokken als eine einheitliche Gruppe anzusehen sind, die nur im Darme vorkommt, oder ob sich unter ihnen auch Streptokokken anderer Herkunft, besonders aus dem Rachen stammende, die mit der Nahrung und dem Speichel in den Darm gelangt sind, finden. Dible z. B. glaubte, einen Teil seiner Stämme, und zwar gerade die raffinosevergärenden, auf Grund dieser Eigenschaften als Streptococcus mitis und salivarius ansehen zu sollen, und auch andere Autoren haben für die Mannit nicht vergärenden Stämme die Herkunft aus der Mundhöhle angenommen.

Auf Grund unserer Beobachtungen, daß alle unsere Stämme — auch Nr. 53 war wenigstens thermoresistent — mindestens eine der für Enterokokken charakteristischen Eigenschaften zeigten, neigen wir mehr zu der Ansicht, daß die überwiegende Mehrzahl der Stuhlstreptokokken einen einheitlichen, an diese Siedlungsstätte gebundenen Typus darstellt. Dabei soll nicht ausgeschlossen werden, daß gelegentlich auch einmal ein Rachenstreptococcus im Stuhl angetroffen wird. Im ganzen wird man aber ein solches Vorkommen als Ausnahme ansehen dürfen und von einem wohl-

charakterisierten Typus der Stuhlstreptokokken oder Enterokokken sprechen dürfen.

Zusammenfassung.

Bei der Untersuchung von 60 aus normalen und pathologischen Stühlen gezüchteten Enterokokkenstämmen wurden folgende Merkmale festgestellt:

Morphologisch erschienen die Stämme häufig, aber keineswegs regelmäßig als Diplokokken von ovaler Gestalt. Nicht selten waren ausgesprochen runde Formen vorhanden, zum Teil ebenfalls in Diplokokkenformen, häufig aber auch in Haufen oder zu Ketten angeordnet. Charakteristisch erschien die Polymorphie, das Auftreten von Stäbchen- und Riesenformen.

Auf Blutplatten wuchsen die Stämme in farblosen Kolonien oder in solchen von grauweißer Eigenfarbe. Die große Mehrzahl rief grüne Verfärbung des Nährbodens hervor.

In Bouillon wuchsen 93,4 Proz. mit gleichmäßiger Trübung. Aeskulin spalteten 98,17 Proz., Mannit 61,6 Proz., Raffinose dagegen nur 23,3 Proz. Alle Stämme gediehen üppig in 20 Proz. Galle-Peptonwasser. 76,7 Proz. der Stämme überlebten 30 Min. langes Erhitzen auf 60° C.

Auf Grund dieser Eigenschaften, die andere Streptokokkenarten nicht oder nur sehr selten aufweisen, lassen sich die Stuhlstreptokokken oder Enterokokken als einheitliche Gruppe auffassen, die von den anderen Streptokokkenarten leicht zu differenzieren ist.

Literaturverzeichnis.

1) Escherich, Th., Die Darmbakterien des Säuglings, Stuttgart 1886. — 2) Hirsch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22. 1897; Bd. 12. S. 369 — 3) Libmann, Th., Ibid. Bd. 12. 1897. S. 376. — 4) Escherich, Th., Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 49. 1899. S. 187. — 5) Tavel u. Lanz, zit. b. Escherich. — 6) Thiercelin, Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 51. 1899. p. 261. — 7) Ders., Ibid. T. 54. 1902. p. 1082. — 8) Andrewes u. Horder, Lancet. 1906. Vol. II. p. 708. — 9) Winslow, C.-E. A., u. Palmer, Journ. infect. Dis. Vol. 7. 1910. p. 1. — 10) Fuller, C. A., u. Armstrong, V. A., Ibid. Vol. 13. 1913. p. 442. — 11) Logan, R. W., Journ. Pathol. a. Bact. Vol. 18. 1914. p. 527. — 12) Schmitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. S. 51. — 13) Houston, T., u. Mc. Cloy, Lancet. 1916. Vol. II. p. 632. — 14) Weissenbach, R.-I., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 81. 1918. p. 559 u. 819. — 15) Oppenheim, Journ. Inf. Dis. Vol. 26. 1920. p. 117. — 16) Dible, I. H., Journ. Pathol. a. Bact. Vol. 25. 1922. p. 1. — 17 Rochaix, A., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 90. 1924. p. 771. — 18) Harrison u. Vanderleck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1909. S. 547. — 19) Meyer, K., Klin. Wochenschr. 1924. S. 2291. — 20) Bagger, S. V., Undersøgelser over Entercoccer. Kopenhagen 1925. — 21) Heim, L., Ztschr. f. Hyg. Bd. 101. 1924. S. 104. — 22) Meyer, K., u. Schönfeld, H., Centralbl. f. Bakt. 1926. Bd. 99.
1926. Bd. 99. S. 402.

Ueber die Unterscheidung des Enterococcus vom Streptococcus viridans und die Beziehungen beider zum Streptococcus lactis.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin (Direktor: Dr. Kurt Meyer).]

Von **Kurt Meyer** und **Hertha Schönfeld.**

I. Die Unterscheidung des Enterococcus vom Streptococcus viridans.

Daß der Enterococcus in der deutschen bakteriologischen Literatur eine so unbedeutende Rolle spielt, dürfte in erster Linie darauf zurückzuführen sein, daß er von den meisten Bakteriologen nicht als besonderer Typus anerkannt, sondern zu der großen Schar der auf der Blutplatte grün wachsenden Streptokokken, dem Streptococcus viridans Schottmüllers, gerechnet wird. So hat Schottmüller[1]) selbst schon in seiner ersten Veröffentlichung, in der er die Typen des Str. haemolyticus, des Str. viridans oder mitis und des Str. mucosus aufstellte, vom Vorkommen des Str. viridans im Darm gesprochen.

In den bakteriologischen Lehrbüchern wird der Enterococcus entweder überhaupt nicht erwähnt oder es wird ihm die Pathogenität abgesprochen. Diese vermeintliche Harmlosigkeit bildet eine zweite Erklärung für die geringe Beachtung, die ihm von Seiten der Bakteriologen geschenkt wird. Während in der französischen bakteriologischen Literatur der Enterococcus stets als besonderer, den übrigen Streptokokken gleichwertiger, wohl charakterisierter Typus angeführt und seit langer Zeit als Erreger mannigfaltiger Krankheitszustände gewürdigt wird, hat in Deutschland, wenn man von den Arbeiten der Escherichschen[2]) Schule absieht, die dem mit dem Enterococcus wohl identischen Streptococcus enteritidis eine heute wieder zweifelhaft gewordene ätiologische Rolle bei der Entstehung von Säuglingsenteritiden zuschrieben, nur H. Schmitz[3]) schon vor längerer Zeit und auch neuerdings wieder auf die pathogenen Fähigkeiten des Enterococcus hingewiesen, ohne ihm damit ein größeres Interesse bei den Bakteriologen gewinnen zu können.

Demgegenüber hat Kurt Meyer[4]) vor einiger Zeit von neuem auf die Bedeutung aufmerksam gemacht, die dem Enterococcus als Krankheitserreger zukommt, indem er nicht nur bei allen mit dem Darmkanal in Zusammenhang stehenden Eiterungsprozessen sehr häufig angetroffen wird, sondern nicht selten auch Cystitiden und Pyelitiden hervorruft und vor allem eine wichtige ätiologische Rolle bei den Infektionen der Gallenwege spielt, bei denen er in 41,5 Proz. aller Fälle mit bakteriologischem Befund nachgewiesen wurde.

---

1) Schottmüller, H., Münch. med. Wochenschr. 1903. S. 849.
2) Escherich, Th., Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 49. 1899. S. 187.
3) Schmitz, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. S. 51, und Bd. 96. 1925. S. 277.
4) Meyer, Kurt, Klin. Wochenschr. 1924. S. 2291.

In der genannten Arbeit wurde bereits eine Reihe von Merkmalen angeführt, die die Erkennung des Enterococcus und seine Unterscheidung vom Streptococcus viridans und vom Pneumococcus, mit denen eine Verwechslung am ehesten in Frage kommt, ermöglichen. Als solche Merkmale wurden hervorgehoben die meist ovale Gestalt, die Anordnung in Diploformen, die gleichmäßige Trübung der Bouillonkulturen, die Resistenz gegen Erhitzen auf 60°, die Fähigkeit der Mannitvergärung, die Unfähigkeit zur Raffinosespaltung, die Galleunlöslichkeit und die Optochinunempfindlichkeit.

Dabei wurde nicht verschwiegen, daß die Unterscheidung von jenen im Rachen vorkommenden, avirulenten Diplokokken, für die man engere Beziehungen zu den Pneumokokken annimmt, gelegentlich auf Schwierigkeiten stoßen kann. Vor diese Aufgabe aber sieht man sich z. B. gestellt, wenn man bei den im normalerweise keimfreien Duodenum unter pathologischen Verhältnissen in mehr oder weniger großer Menge vorhandenen Diplokokken — Hoefert[1]) und Löwenberg[2]) haben über solche Befunde aus unserem Laboratorium berichtet — mit Sicherheit entscheiden will, ob es sich um Enterokokken oder um den Rachen entstammende Viridansstreptokokken handelt. Schon aus diesem Grund erschien es erwünscht, die Differentialdignose zwischen dem Enterococcus und dem Str. viridans noch sicherer als bisher zu gestalten. Wir haben uns daher bemüht, weitere Grundlagen hierfür zu schaffen, indem wir vor allem das Verhalten einer größeren Zahl von Viridans-Stämmen gegenüber einigen für den Enterococcus als charakteristisch angegebenen Reaktionen prüften.

Die Methoden, die wir hierfür heranzogen, waren die Untersuchung auf Galleempfindlichkeit, auf Thermoresistenz und auf Vergärung des Glykosids Aesculin. Ferner prüften wir einen großen Teil der Stämme auf das Spaltungsvermögen für Mannit und Raffinose.

Die Galleresistenz der Enterokokken ist, soweit wir die Literatur übersehen, zuerst von Weissenbach[3]) beschrieben worden. Er hat diese Eigenschaft zunächst hervorgehoben im Gegensatz zu der Galleempfindlichkeit der hämolytischen Streptokokken. Später stellte er fest, daß auch die anhämolytischen Streptokokken galleempfindlich sind und sich so vom Enterococcus differenzieren lassen. Er gab zu diesem Zweck einen Nährboden an, bestehend aus 4 Proz. Peptonwasser mit einem Zusatz von 0,2 Proz. Glukose und 10 Proz. Galle an, die Galle soll einen Trockengehalt von 10,2 Proz. haben oder entsprechend verdünnt werden. Auf diesem Nährboden sollen Streptokokken nicht wachsen, während Enterokokken sich üppig vermehren.

Morin, Caudière und Certonciny[4]) prüften die Galleresistenz in anderer Weise. Sie fügten zu 5 ccm einer 24stünd. Bouillonkultur 0,1 ccm Galle, bebrüteten weitere 24 Std. und impften dann ab, um festzustellen, ob Abtötung eingetreten war. Während Enterokokken aus-

1) Hoefert, B., Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 92. 1924. S. 221.
2) Löwenberg, W., Klin. Wochenschr. 1926. S. 518; Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. 37. 1926. S. 274.
3) Weissenbach, R.-G., Compt. rend. Soc. de Biol. T. 81. 1918, p. 559 et 819.
4) Morin, Caudière et Certonciny, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 90. 1924. p. 1268.

nahmslos am Leben blieben, wurden Streptokokken durch die Galle abgetötet.

Auf die Thermoresistenz der Enterokokken wurde zuerst von Houston und Mc. Cloy[1]) aufmerksam gemacht. Sie fanden, daß Enterokokken anderthalbstündiges Erwärmen auf 55° überstehen.

Dible[2]) dem wir eine sehr sorgfältige und wertvolle Arbeit über Enterokokken verdanken, hat die Angaben Houstons und Mc. Cloys an einem großen Material nachgeprüft. Er fand unter 137 Stuhlstreptokokkenstämmen 85 Stämme, die eine halbstündige Erwärmung auf 60° überlebten. Da, wie er annimmt, sich unter diesen Stämmen noch eine Anzahl aus der Mundhöhle in den Darm gelangter Mundstreptokokken befanden, so glaubt er die Häufigkeit der Thermoresistenz bei den eigentlichen Enterokokken noch erheblich höher veranschlagen zu dürfen und sieht daher in dieser Eigenschaft eines der charakteristischsten Merkmale der Enterokokken, zumal er bei einer Anzahl von hämolytischen und Viridansstreptokokkenstämmen eine solche Thermoresistenz nicht nachweisen konnte.

Bagger[3]) hat in seiner kürzlich erschienenen Monographie über die Enterokokken der Thermoresistenz besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Er stellte den Prozentsatz der überlebenden Stämme bei Erhitzung auf verschiedene Temperaturen fest und fand, daß 95,33 Proz. seiner Stämme einstündiges Erhitzen auf 60° überstanden. Dagegen wurden 30 hämolytische und nicht hämolytische Streptokokkenstämme sowie 10 Pneumokokkenstämme durch halbstündiges Erhitzen auf 60° sämtlich abgetötet.

Das Aeskulin wurde von Harrison und Vanderleck[4]) in die bakteriologische Diagnostik eingeführt. Sie glaubten, das Aeskulinspaltungsvermögen als ein Charakteristikum der Coli-Bazillen ansprechen zu dürfen, und empfahlen Aeskulinnährböden zur Züchtung der Coli-Bazillen. Das Wesentliche dieser Nährböden ist, daß sie neben dem Aeskulin ein Eisenoxydsalz enthalten, das mit dem bei der Spaltung des Aeskulins frei werdenden Aeskuletin eine tief schwarz gefärbte Verbindung eingeht.

Rochaix[5]) konnte sich von der Konstanz des Aeskulinspaltungsvermögens bei den Coli-Bazillen nicht überzeugen, auch fand er diese Eigenschaft nicht auf sie beschränkt. Dagegen stellte er später fest, daß Enterokokken fast ausnahmslos (23 von 24 Stämmen) Aeskulin spalteten, während hämolytische Streptokokken diese Fähigkeit niemals zeigten. Auch der erste von ihm untersuchte Viridans-Stamm zersetzte Aeskulin, so daß Rochaix zunächst vermutete, daß das Aeskulinspaltungsvermögen auch für den Streptococcus viridans charakteristisch sei; von 4 weiteren Stämmen schwärzte aber nur einer und zwar erst nach 48 Std. den Nährboden. Von einer differentialdignostischen Verwertbarkeit dieser Reaktion spricht Rochaix nicht.

* * *

Was unser Untersuchungsmaterial betrifft, so umfaßt es 152 Enterokokkenstämme und 82 Viridansstämme, ferner

1) Houston, I., et. Mc Cloy, Lancet. 1916. Vol. 2. p. 632.
2) Dible, J. H., Journ. of Pathol. and Bakt. Vol. 95. 1922. p. 3.
3) Bagger, S. V., Undersogelser over Enterococcer. Kopenhagen 1925.
4) Harrison, F. C. u. Vanderleck, J., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1919. S. 547.
5) A. Rochaix, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 90. 1924. p. 771.

18 Stämme von Streptococcus haemolyticus. Von den 152 Enterokokkenstämmen sind 60 Stuhlstämme bereits in der vorangehenden Arbeit von H. Schönfeld beschrieben. Die übrigen 92 Stämme stammen aus Eiter, Urin, Galle und Duodenalsaft pathologischer Fälle. Es wurden nur solche Stämme gewählt, die nach Herkunft, Morphologie und sonstigem kulturellen Verhalten mit Sicherheit als Enterokokken angesprochen werden konnten.

Bei den Viridansstämmen handelte es sich fast ausnahmslos um Rachenstreptokokken, da wir aus dem Blut gezüchtete Stämme nur in geringer Zahl (3) zur Verfügung hatten. Wir nahmen alle auf der Blutplatte grün wachsenden Stämme, ohne uns auf eine weitere Differenzierung einzulassen. Unter den Rachenstreptokokken wird man ja die für die praktische Differentialdiagnose in erster Linie in Betracht kommenden Erreger der verschiedenartigen Infektionen tonsillären Ursprungs zu suchen haben.

Die Galleempfindlichkeit unserer Stämme prüften wir in dem von Weißenbach angegebenen Nährboden; doch verwandten wir, als eine Anzahl unserer Viridansstämme in dem 10proz. Galle-Peptonwasser wuchsen, außerdem noch ein solches mit 20 Proz. Gallezusatz. Nach 24- und 48stünd. Bebrütung wurde auf Blutplatten abgeimpft, um festzustellen, ob Vermehrung, Entwicklungshemmung oder Abtötung eingetreten war. Die Methode von Morin, Caudière und Certonciny erwies sich uns als unbrauchbar, da auch Viridansstreptokokken durch die geringe Gallenmenge nicht abgetötet wurden.

Die Prüfung auf Thermoresistenz nahmen wir in derselben Weise wie Dible vor, indem wir Bouillonkulturen in Kapillarpipetten einschmolzen und diese in ein Wasserbad von 60° versenkten. Nach Ablauf der Erhitzungsdauer wurde die Kapillarspitze abgebrochen, worauf wir einige Tropfen auf eine Blutplatte fallen ließen und ausstrichen. Wir glauben durch diese Verimpfung der tiefsten Flüssigkeitsschichten der Gefahr entgangen zu sein, auf die Bagger aufmerksam macht, daß nämlich an der Glaswand oberhalb des Flüssigkeitsspiegels Kokken antrocknen und in diesem Zustand das Erhitzen leichter überstehen können. Als notwendig erwies es sich, die Blutplatten 3mal 24 Std. zu beobachten, da die durch das Erwärmen geschädigten Kokken häufig erst langsam zu Kolonien auswachsen.

Zur Prüfung auf Aeskulinspaltung verwendeten wir nicht den von Rochaix benutzten Aeskulinagar, sondern einen ebenfalls von Harrison und Vanderleck angegebenen flüssigen Nährboden von der Zusammensetzung: 1,5 g Pepton, 0,5 g Natrium taurocholicum, 0,1 g Aeskulin und 0,05 g Ferricitrat (Merck) in 100 ccm Wasser. Auf diesem Nährboden gibt sich die Aeskulinspaltung durch tiefe Schwarzfärbung der Flüssigkeit viel sinnfälliger zu erkennen als auf dem Aeskulinagar.

Auf Mannit- und Raffinosevergärung prüften wir in dem bekannten Hissschen Nährboden (1 Teil Rinderserum + 2 Teile Aq. dest. + 1 Proz. Zucker + 7 Proz. Lackmustinktur), der bei Säurebildung gerötet und koaguliert wird.

In den nachfolgenden Tabellen I, II und III sind nun die Untersuchungsergebnisse zusammengestellt. Zu den Tabellen ist zu bemerken, daß, da die Versuche sich über längere Zeit hinzogen, nicht sämtliche Stämme auf alle Eigenschaften geprüft wurden. Wir werden bei Besprechung der Ergebnisse daher hauptsächlich die Prozentualwerte mit-

Tabelle I.
Viridans-Stämme.

No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Raffinosespaltung	Wachstum in Galle-Peptonwasser 10%	20%	Thermoresistenz	No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Raffinosespaltung	Wachstum in Galle-Peptonwasser 10%	20%	Thermoresistenz	No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Raffinosespaltung	Wachstum in Galle-Peptonwasser 10%	20%	Thermoresistenz
1	+	—	+	.	.	—	29	—	—	.	.	.	—	57	—	.	.	—	—	—
2	—	+	+	.	.	—	30	—	—	.	.	.	—	58	—	.	.	—	—	—
3	—	+	—	.	.	—	31	—	—	.	.	.	—	59	—	.	.	—	—	—
4	—	+	—	.	.	—	32	—	—	.	.	.	—	60	—	—	.	+	—	—
5	—	+	+	.	.	—	33	—	—	.	.	.	—	61	—	—	.	—	—	—
6	—	—	+	.	.	—	34	—	—	.	.	.	—	62	—	—	.	+	+	—
7	—	—	+	.	.	—	35	—	—	.	.	.	—	63	—	—	.	—	—	—
8	—	+	+	.	.	—	36	—	—	.	.	.	—	64	+	+	.	+	+	—
9	—	—	+	.	.	—	37	—	—	.	.	.	—	65	—	—	.	—	—	—
10	—	—	+	.	.	—	38	—	—	.	.	.	—	66	—	—	.	—	—	—
11	—	—	—	.	.	—	39	—	—	.	—	—	—	67	—	—	.	+	+	—
12	—	—	—	.	.	—	40	—	—	.	—	—	—	68	—	—	.	—	—	—
13	—	—	—	.	.	—	41	—	—	.	—	—	—	69	—	+	.	—	—	—
14	—	—	—	.	.	—	42	—	—	.	—	—	—	70	—	—	.	—	—	—
15	—	—	—	.	.	—	43	—	—	.	+	+	—	71	—	+	.	geh.	—	—
16	—	—	+	.	.	—	44	—	—	.	+	+	—	72	—	+	.	—	—	—
17	—	—	—	.	.	—	45	—	—	.	—	—	—	73	+	+	.	+	+	—
18	—	—	+	.	.	—	46	—	—	.	—	—	—	74	—	+	.	—	—	—
19	—	—	+	.	.	—	47	—	—	.	—	—	—	75	—	+	.	geh.	—	—
20	—	—	—	.	.	—	48	—	—	.	—	—	—	76	—	—	.	—	—	—
21	—	—	+	.	.	—	49	—	—	.	—	—	—	77	—	—	.	—	—	—
22	—	—	+	.	.	—	50	—	.	.	+	geh.	—	78	—	—	.	—	—	—
23	+	.	.	.	.	+	51	—	.	.	+	+	—	79	+	—	.	+	+	—
24	—	.	.	.	.	—	52	—	.	.	—	—	—	80	—	—	.	—	—	—
25	—	.	.	.	.	—	53	—	.	.	+	—	—	81	—	—	.	—	—	—
26	—	.	.	.	.	—	54	—	.	.	—	—	—	82	—	—	.	—	—	—
27	—	—	.	.	.	—	55	+	.	.	+	+	—							
28	—	—	.	.	.	—	56	—	.	.	+	—	—							

Tabelle II.
Streptococcus haemolyticus-Stämme.

No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Wachstum in Galle 10%	20%	Thermoresistenz	No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Wachstum in Galle 10%	20%	Thermoresistenz
1	—	—	—	—	—	10	—	—	+	+	—
2	—	—	—	—	—	11	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	12	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	13	+	—	.	.	—
5	—	—	—	—	—	14	—	—	.	.	—
6	—	—	—	—	—	15	—	—	.	.	—
7	—	—	—	—	—	16	—	—	.	.	—
8	—	—	—	—	—	17	—	—	.	.	—
9	—	—	—	—	—	18	—	—	.	.	—

einander zu vergleichen haben. Bei der Kohlehydratspaltung bedeutet ein ±-Zeichen eine schwache Rötung und Trübung des Nährbodens ohne vollständige Koagulation. Das —-Zeichen bei der Galleprüfung bedeutet, daß keine Kolonien auf der Blutplatte wuchsen, daß also die

Tabelle III.
Enterokokkenstämme.

No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Wachstum in 20% Galle	Gelatineverflüssigung	Thermoresistenz	No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Wachstum in 20% Galle	Gelatineverflüssigung	Thermoresistenz	No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Wachstum in 20% Galle	Gelatineverflüssigung	Thermoresistenz
1	+	+	+	—	.	32	+	±	+	—	—	63	+	+	+	—	.
2	+	+	+	—	.	33	+	+	+	—	—	64	+	+	+	+	.
3	+	+	+	—	+	34	+	+	+	—	.	65	+	+	+	—	+
4	+	+	+	—	+	35	+	+	+	+	.	66	+	+	+	—	+
5	+	+	+	—	+	36	+	+	+	+	+	67	+	±	+	—	—
6	+	+	+	—	.	37	+	+	+	—	.	68	+	±	+	—	—
7	+	+	+	—	.	38	+	+	+	—	.	69	+	±	+	—	+
8	+	+	+	—	.	39	+	+	+	—	+	70	+	+	+	—	+
9	+	+	+	—	.	40	+	+	+	—	.	71	+	+	+	—	+
10	+	+	+	—	—	41	+	+	+	—	+	72	+	+	+	—	+
11	+	+	+	—	.	42	+	+	+	—	.	73	+	+	+	—	+
12	+	+	+	+	+	43	+	+	+	—	+	74	+	±	+	—	+
13	+	+	+	—	.	44	+	+	+	—	+	75	+	+	+	—	—
14	+	+	+	+	.	45	+	±	+	—	—	76	+	+	+	+	+
15	+	+	+	+	+	46	+	±	+	—	+	77	+	±	+	—	.
16	+	+	+	—	+	47	+	±	+	—	+	78	+	±	+	—	.
17	+	+	+	—	+	48	+	+	+	+	.	79	+	±	+	—	.
18	+	+	+	—	+	49	+	+	+	—	—	80	+	+	+	—	.
19	+	+	+	—	+	50	+	±	+	—	+	81	+	+	+	+	.
20	+	+	+	—	+	51	+	±	+	—	—	82	+	+	+	—	+
21	+	+	+	—	+	52	+	+	+	—	+	83	+	+	+	—	—
22	+	+	+	—	+	53	+	+	+	—	+	84	+	+	+	—	—
23	+	+	+	—	.	54	+	+	+	—	.	85	+	+	+	—	+
24	+	+	+	—	+	55	+	±	+	—	—	86	+	±	+	—	—
25	+	+	+	—	+	56	+	+	+	—	—	87	+	+	+	—	—
26	+	+	+	—	—	57	+	+	+	—	.	88	+	+	+	—	—
27	+	+	+	—	+	58	+	+	+	—	—	89	+	+	+	—	+
28	+	+	+	—	—	59	+	+	+	—	.	90	+	+	+	—	+
29	+	+	+	—	+	60	+	+	+	—	.	91	+	+	+	—	—
30	+	+	+	—	—	61	+	±	+	—	.	92	+	+	+	—	—
31	±	±	+	—	+	62	+	+	+	—	.						

hineingeimpften Kokken abgestorben waren. Mit gehemmt (geh.) sind die Stämme bezeichnet, bei denen nur spärliche Kolonien sich entwickelten, offenbar von der Einsaat herrührend. Ein +-Zeichen bedeutet dichtes Wachstum auf der Blutplatte, das auf reichliche Vermehrung schließen ließ, die übrigens bereits an der starken Trübung des Gallennährbodens zu erkennen war.

Bevor wir zur Besprechung unserer Ergebnisse übergehen, müssen wir kurz die Resultate zusammenfassen, zu denen H. Schönfeld[1]) in der vorangehenden Arbeit bei der Untersuchung von 60 Stuhlenterokokkenstämmen gelangt ist, da wir diese in unsere Vergleichsbetrachtungen einbeziehen wollen. Von diesen 60 Stämmen spalteten Mannit 37 = 61,6 Proz., Raffinose 14 = 23,3 Proz., Thermoresistent waren 46 = 76,7 Proz. In 10proz. Galle-Peptonwasser wuchsen sämtliche Stämme. Gelatine verflüssigte keiner. Aeskulin spalteten von 55 Stämmen 54 = 98,2 Proz. Bis auf 4 Stämme, die als bröckeliger Bodensatz wuchsen, zeigten alle Stämme homogene Trübung in Bouillon.

Wir wollen die Besprechung unserer Versuchsergebnisse mit der Galleempfindlichkeit beginnen. Aus Tabelle I ergibt sich, daß

1) Schönfeld, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 99. 1926. S. 383.

von 44 Viridansstämmen 9 in 20proz., 13 in 10proz. Galle-Peptonwasser sich vermehrten; 2 Stämme blieben am Leben, ohne sich zu vermehren, während 29 Stämme innerhalb 24 Std. durch das 10proz. Galle-Peptonwasser abgetötet wurden.

Von 12 hämolytischen Streptokokkenstämmen entwickelte sich 1, ein Scharlachstreptococcus, in 20proz. Galle-Peptonwasser, während die übrigen, darunter 4 weitere Scharlachstreptokokken, mehrere Erysipel- und Sepsisstämme, bereits durch 10 Proz. Galle-Peptonwasser abgetötet wurden.

Was die Enterokokkenstämme betrifft, so wurde bereits erwähnt, daß die 60 Stuhlstämme sich sämtlich üppig in 20proz. Galle-Peptonwasser entwickelten. 20 andere Enterokokkenstämme zeigten ebenfalls reichliche Vermehrung in diesem Nährboden.

Wir können somit Weißenbachs Angaben nur für die Enterokokken voll bestätigen. Dagegen ist die Galleempfindlichkeit der hämolytischen und Viridansstreptokokken bei der Versuchsanordnung von Weißenbach keineswegs regelmäßig nachweisbar: von unseren Viridansstämmen zeigten sie nur 65,9 Proz. Es wäre möglich, daß sich durch Steigerung der Gallenkonzentration schließlich das Wachstum aller Streptokokkenstämme unterdrücken lassen würde, während nach Bagger die Enterokokken sich sogar in reiner Galle mit Peptonzusatz vermehren sollen.

Thermoresistent war von 82 Viridansstämmen nur ein einziger (Nr. 23). Bemerkenswert erscheint, daß dieser Stamm auch Aeskulin spaltete, in beiden Eigenschaften sich also wie ein Enterococcus verhielt; andererseits ließ er allerdings die Bouillon völlig klar, wie es bei Enterokokken nur ausnahmsweise beobachtet wird. Gegen seine Enterokokkennatur spricht auch die große Hinfälligkeit, infolgedessen auch nicht mehr die Prüfung auf Galleempfindlichkeit ausgeführt werden konnte. Von den 18 hämolytischen Stämmen erwies sich keiner als thermoresistent.

Dagegen zeigten von 122 Enterokokkenstämmen 86 = 70,5 Proz. das Merkmal der Thermoresistenz.

Aeskulin spalteten von 82 Viridansstämmen 6 = 7,3 Proz. von 8 hämolytischen Stämmen 1 = 5,6 Proz., von 147 Enterokokkenstämmen dagegen 146 = 99,3 Proz. Was die Aeskulin spaltenden Viridansstämme betrifft, so ist es bei den Stämmen 64 und 73 zum mindesten fraglich, ob es sich nicht um Enterokokkenstämme handelt, da sie auch Mannit vergoren und galleunempfindlich waren, und Stamm 79 war wenigstens galleresistent. Stamm 55 wurde auf Mannitspaltung nicht untersucht, war aber ebenfalls galleunempfindlich. Der bereits erwähnte Stamm 23 war thermoresistent. Es bleibt also nur Stamm 1 als einziger, der außer der Aeskulinspaltung kein für Enterokokken charakteristisches Merkmal aufweist, wobei zu beachten ist, daß er auf Galleresistenz nicht geprüft wurde.

Mannit vergoren von 68 Viridansstämmen 12 = 17,7 Proz., von den hämolytischen Streptokokken keiner, von 152 Enterokokkenstämmen stark 112 = 75 Proz., die anderen meist in geringem Grade.

Raffinose zersetzten von 22 Viridansstämmen 13 = 59,1 Proz., von 60 Enterokokkenstämmen 14 = 23,3 Proz.

Gelatineverflüssigung zeigten 8 von 152 Enterokokkenstämmen, während für hämolytische und Viridansstreptokokken als charakteristisch gilt — was wir nach unseren Erfahrungen bestätigen können

— daß sie Gelatine nicht verflüssigen, zumal sie häufig bei Zimmertemperatur überhaupt nicht wachsen.

* * *

Wenn wir nunmehr den Wert der von uns untersuchten Merkmale für die Differentialdiagnose zwischen den Enterokokken und den Viridansstreptokokken, auf die es in der Praxis ja hauptsächlich ankommen wird, zusammenfassend zu beurteilen versuchen, so dürfen wir zunächst die Galleresistenz als obligates Merkmal der Enterokokken ansehen. Ein Stamm, der in 20proz. Galle-Peptonwasser nicht wächst, ist kein Enterococcus. Auf der anderen Seite aber schließt das Vorhandensein der Galleresistenz bei der Prüfung nach Weißenbach keineswegs die Viridansnatur mit Sicherheit oder auch nur Wahrscheinlichkeit aus, da ein immerhin erheblicher Prozentsatz auch der Viridansstreptokokken sich im gallehaltigen Medium vermehrt.

Ein weit charakteristischeres Merkmal der Enterokokken ist die Thermoresistenz. Allerdings fanden wir sie nicht in gleicher Häufigkeit wie Bagger, sondern nur in einem ähnlichen Prozentsatz wie Dible. Dadurch aber, daß sie bei Viridanskokken niemals oder nur ganz ausnahmsweise anzutreffen ist, gewinnt sie, wenn vorhanden, einen ganz besonders hohen differentialdiagnostischen Wert.

Noch höher zu veranschlagen ist die differentialdiagnostische Bedeutung der Aeskulinspaltung, die von Rochaix ganz übersehen wurde. Sie ist ein ebenso obligates Merkmal der Enterokokken wie die Galleresistenz. Wieder kann man sagen, daß ein Stamm, der Aeskulin nicht spaltet, fast mit Sicherheit kein Enterococcus ist. Man kann aber noch weiter gehen und positiv schließen, daß ein Stamm, der Aeskulin zersetzt, mit großer Wahrscheinlichkeit kein Viridans, sondern ein Enterococcus ist. Wir sehen in der Prüfung auf Aeskulinspaltung das wichtigste Hilfsmittel zur Unterscheidung des Enterococcus von den anderen Streptokokkentypen.

Man könnte glauben, daß das Ausbleiben einer Schwärzung des Aeskulinnährbodens durch die Viridans- und Haemolyticus-Stämme auf seinem Gehalt an taurocholsaurem Natron beruht, das die Entwicklung oder die chemischen Leistungen der Streptokokken hemmen könnte. Wir haben, um diese Frage zu entscheiden, eine große Zahl von Entero- und Streptokokken auf ihr Verhalten in einem Aeskulin-Lackmus-Peptonwasser geprüft. Nur diejenigen Stämme röteten diesen Nährboden, die auch den Harrisonschen Nährboden schwärzten. Andererseits bildeten die meisten Streptokokkenstämme in einem Dextrose-Lackmus-Peptonwasser mit 0,5 Proz. Taurocholatzusatz ungehindert Säure. Zur Unterscheidung des Enterococcus vom Streptococcus viridans wäre also der Taurocholatzusatz überflüssig; es empfiehlt sich aber, ihn beizubehalten, da er das Wachstum der Pneumokokken verhindert und so deren Differenzierung von den Enterokokken ohne weiteres ermöglicht.

Die Fähigkeit der Aeskulinspaltung ist wohl nur ein Ausdruck der starken Vergärungsaktivität, die die Enterokokken gegenüber allen Kohlehydraten zeigen. So fand Bagger, daß sie regelmäßig auch die Glykoside Salicin, Arbutin und Amygdalin zersetzen. Ob aber der Streptokokken das Vergärungsvermögen gegenüber diesen Glykosiden in gleicher Weise fehlt wie gegenüber dem Aeuskulin, dürfte noch nicht

systematisch untersucht sein, für das Salicin aber nach den Angaben der amerikanischen Literatur, die unseren Erfahrungen entsprechen, jedenfalls nicht zutreffen.

Der Mannitvergärung, die bisher ein Hauptmerkmal zur Charakterisierung der Enterokokken bildete, kann ein gleich hoher diagnostischer Wert wie der Aeskulinspaltung nicht zugeschrieben werden. Einmal kommt sie nur etwa 75 Proz. der Enterokokkenstämme zu; sodann sind Viridansstämme, die Mannit vergären, nicht allzu selten. Immerhin wird auch diese Probe ihren diagnostischen Wert behalten.

Der Prüfung auf Raffinosevergärung können wir dagegen keine große Bedeutung beimessen. Ihr Vorhandensein schließt die Enterokokkennatur eines Stammes keineswegs aus und ist andererseits bei Viridansstämmen durchaus nicht die Regel.

Verflüssigt ein Stamm Gelatine, was allerdings nur selten der Fall sein wird, so dürfte es sich mit Wahrscheinlichkeit um einen Enterococcus, dagegen nicht um einen Viridans handeln.

Das Ergebnis unserer Versuche glauben wir dahin zusammfassen zu können, daß eine Differenzierung des Enterococcus und des Streptococcus viridans nur in sehr seltenen Fällen auf Schwierigkeiten stoßen wird. Wir verfügen über eine ganze Reihe von Hilfsmitteln, die eine Unterscheidung beider Typen ermöglichen. Die Diagnose wird dadurch erleichtert, daß Uebergangsformen, d. h. solche, die auf Grund eines Merkmals dem einen, auf Grund eines anderen dem anderen Typus zuzurechnen wären, nach unseren Erfahrungen nur selten vorzukommen scheinen. Unter den Viridansstämmen fallen nur die Aeskulinspalter aus der Reihe, von denen man aber, wie bereits oben erörtert, zum Teil auf Grund ihrer übrigen Eigenschaften annehmen darf, daß sie in Wirklichkeit Enterokokken waren. Somit ist bei unserem Material von 234 Stämmen die Zahl der Stämme, bei denen die Zuteilung auf Zweifel stoßen kann, verschwindend gering, und damit im Einklang stehen unsere Erfahrungen in der täglichen diagnostischen Praxis.

Der Uebersichtlichkeit wegen möchten wir in der nachfolgenden Tabelle die wichtigsten Merkmale für den Enterococcus und Streptococcus viridans noch einmal zusammenstellen:

Tabelle IV.

	Enterococcus	Streptococcus viridans
Obligate: Merkmale:	Aeskulinspaltung Galleresistenz	Thermolabilität
Fast konstante oder sehr häufige Merkmale:	Thermoresistenz Mannitspaltung Diffuses Wachstum in Bouillon Grauweiße Eigenfarbe der Kolonien auf der Blutplatte, der Vergrünung superponiert Ovale od. lanzettförmige Kokken in Diploformen	Fehlen der Aeskulinspaltung Fehlen der Mannitspaltung Galleempfindlichkeit Bröckliges Wachstum in Bouillon Vergrünende Kolonien ohne Eigenfarbe auf der Blutplatte Runde Kokken, in Ketten angeordnet

Wir dürfen darauf hinweisen, daß es entsprechend dieser bakteriologischen Differenzierbarkeit der beiden Typen Kurt Meyer und H. Löwenstein[1]) möglich gewesen ist, auch auf serologischem

1) Meyer, Kurt, u. Löwenstein, H., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 47. 1926. S. 39.

Wege mittels Agglutination einen nicht geringen Teil der Enterokokkenstämme als solche zu charakterisieren und sie damit vom Streptococcus viridans mit Sicherheit abzugrenzen.

Durch unsere Untersuchungen scheint uns daher nunmehr eine so sichere Grundlage für die Differenzierung des Enterokokkus von den anderen Streptokokkustypen geschaffen zu sein, daß wir hoffen dürfen, in Zukunft auch in der deutschen bakteriologischen Literatur die Enterokokken als Sondertypus anerkannt und berücksichtigt zu sehen.

II. Das Verhältnis des Enterococcus und des Streptococcus viridans zu den Milchsäurestreptokokken.

Die von uns als notwendig erwiesene scharfe Trennung der Enterokokken von den besonders im Rachen und in der Mundhöhle vorkommenden Viridansstreptokokken steht nun in einem offenbaren Widerspruch zu der von namhaften Forschern vertretenen Ansicht, daß sowohl die Darm- wie die Rachenstreptokokken mit dem Milchsäurestreptokokkus identisch seien, wobei eine Typensonderung innerhalb dieser Art nicht weiter in Erwägung gezogen wird.

Bereits Kruse[1]), dem wir die erste genaue Charakterisierung des von ihm als Streptococcus lacticus bezeichneten wichtigsten Erregers der spontanen Milchsäuregärung verdanken, erklärt diesen für identisch mit den im Darm normalerweise vorkommenden Streptokokken und nimmt, offenbar wegen der gemeinsamen lanzeolären Diploformen, auch nahe Beziehungen zu den Pneumokokken an.

Diese Ansicht von der engen Verwandtschaft der Enterokokken mit den Milchsäurestreptokokken ist auch von Sittler[2]) vertreten worden und ist dann allgemein in der pädiatrischen Literatur herrschend geworden. Auch van der Reis[3]) identifiziert in seiner zusammenfassenden Arbeit über die Darmbakterien die Enterokokken mit den Milchsäurestreptokokken.

Neuerdings haben Ayers und Johnson[4]), die sich in einer größeren Zahl von Arbeiten mit der Bakteriologie der Milchsäuregärung eingehend beschäftigt haben, auch die Beziehungen des mit dem Enterococcus identischen Streptococcus faecalis zum Streptococcus lactis noch einmal erörtert. Für den Streptococcus lactis haben die Autoren die Korrelation von starker Reduktionswirkung gegenüber Lackmus und Janusgrün, das Wachstum bei 10° und die Säurebildung in einem Dextrose-Peptonwasser mit der durch Natriumglykocholat hergestellten niedrigen Oberflächenspannung von 42,7 Dynen, ferner die Widerstandsfähigkeit gegenüber halbstündigem Erhitzen auf 60° als charakteristisch festgestellt. 33 von ihnen untersuchte Streptokokkenstämme aus menschlichen Stühlen zeigten die gleichen Eigenschaften. Da auch die Morphologie und das Aussehen der Kalorien auf der Blutplatte übereinstimmten, so kommen die Autoren zu dem Schluß, daß Streptococcus faecalis und Streptococcus lactis entweder nahe miteinander verwandt oder völlig identisch sind.

---

1) Kruse, W., Centralbl. f. Bakt. Bd. 34. 1903. S. 737.
2) Sittler, P., Centralbl. f. Bakt. Bd. 47. 1908. S. 145.
3) Van der Reis, G., Ergebnisse d. inneren Med. Bd. 27. 1925. S. 77.
4) Ayers, S. H., and Johnson jr., W. T., Journ. of inf. diseas. Vol. 34. 1924. p. 49.

Auf der anderen Seite spricht Kruse davon, daß vom Milchsäurestreptokokkus nicht zu unterscheidende Kokken auch im Munde vorkommen, und Kruses Mitarbeiter Seitz[1]) bezeichnet in seiner Arbeit über die Differenzierung der Streptokokken der Mundhöhle die Lanzettkokken, hauptsächlich auf Grund der morphologischen Uebereinstimmung, ohne weiteres als ,Milchsäurestreptokokken.

Einen ähnlichen Standpunkt vertreten Bitter und Buchholz[2]), die sich eingehend mit den Milchsäurestreptokokken in ihrer Bedeutung für die menschliche Pathologie befaßt haben. Als sicheres Erkennungsmerkmal der Milchsäurestreptokokken betrachten sie das Verhalten in Lackmusmilch, wie es Heim[3]) beschrieben hat. Diese wird von den Milchsäurestreptokokken, wie übrigens früher schon amerikanische Autoren festgestellt haben, zunächst entfärbt und rötet sich erst später von der Oberfläche her. Bitter und Buchholz fanden diese Eigenschaft nicht nur bei echten, aus Milch gewonnenen Stämmen, sondern auch bei solchen, die aus menschlichen Se- und Exkreten gezüchtet waren und vor allem auch bei einem großen Teil der aus der Mundhöhle gezüchteten apathogenen, auf der Blutplatte meist unter Vergrünung wachsenden Streptokokkenstämme, die sie daher unbedenklich zu den Milchsäurestreptokokken rechnen. Im Gegensatz zu diesen Stämmen verändern die pathogenen Bewohner der Mundhöhle, der Pneumococcus und der Diplostreptococcus pleomorphus, die Lackmusmilch in der Weise, daß sie diffuse Rötung ohne Gerinnung bewirken, oder sie lassen sie ganz unverändert. Als noch einfachere Methode zur Unterscheidung der Milchsäurestreptokokken und Pneumokokken empfehlen Bitter und Buchholz übrigens die Züchtung in 1proz. Milchzuckerbouillon, in der die Milchsäurestreptokokken und ebenso die apathogenen Mundstreptokokken eine diffuse, stark milchige Trübung hervorrufen.

Wären in der Tat, wie es Seitz und Bitter wollen, die Mundstreptokokken als Milchsäurestreptokokken anzusehen, für die andererseits die Identität oder nahe Verwandschaft mit den Enterokokken als sicher nachgewiesen gelten kann, so müßte das Ergebnis unserer Untersuchung, daß die Enterokokken einerseits und die Viridansstreptokokken des Rachens andererseits scharf voneinander zu trennen sind, unverständlich erscheinen.

Es drängt sich daher die Frage auf, mit welcher Berechtigung die Identifizierung der Mund- und Milchsäurestreptokokken vorgenommen wurde. Die Tatsachen auf die sich die Autoren stützen, sind die Aehnlichkeit der Morphologie, des Wachstums auf milchzuckerhaltigen Nährböden und der Reduktionswirkung gegen Lackmus. Man wird zugeben müssen, daß keines dieser Merkmale einen so spezifischen Charakter trägt, daß es nicht mehreren Bakterienarten gemeinsam zukommen könnte. Sollten sich also in anderen Eigenschaften durchgreifende Unterschiede herausstellen, so wird die Identifizierung nicht aufrecht erhalten werden können.

Wir haben daher eine Anzahl von Milchsäurestreptokokkenstämmen, die wir aus geronnenen Milchproben verschiedener Herkunft gezüchtet hatten, mit den gleichen Methoden wie unsere Enterokokken- und Viridansstämme untersucht. Das Ergebnis ist in der nachfolgenden Tabelle V niedergelegt.

1) Seitz, Centralbl. f. Bakt. Bd. 89. 1922. S. 135.
2) Bitter, L., u. Buchholz, L., Centralbl. f. Bakt. Bd. 95. 1925. S. 38.
3) Heim, L., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101. 1924. S. 104.

Tabelle V.

Milchsäurestreptokokkenstämme.

No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Raffinosespaltung	Wachstum in Bouillon	Wachstum in 20 % Galle-Peptonwasser	Thermoresistenz
1	—	—	+	diffus	.	—
2	—	—	—	„	.	—
3	—	—	—	„	.	+
4	+	+	—	„	.	+
5	+	+	—	„	.	—
6	—	—	—	„	.	+
7	—	—	—	„	.	—
8	—	—	—	„	.	—
9	+	—	—	„	.	—
10	+	+	—	„	.	+
11	+	±	—	„	.	—
12	+	—	—	„	.	—
13	+	+	+	„	.	+
14	+	—	+	„	.	—
15	+	±	—	„	.	—
16	—	—	—	bröcklig	.	—
17	—	±	+	diffus	.	+
18	—	—	—	„	.	+
19	—	—	+	„	.	+
20	—	—	—	„	.	+
21	—	+	—	„	.	—
22	—	—	+	„	.	—
23	+	—	+	„	.	+
24	—	—	+	„	.	—
25	—	+	+	„	.	+
26	—	—	+	„	.	—
27	—	—	+	„	.	—

No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Wachstum in Bouillon	Wachstum in 20 % Galle-Peptonwasser	Thermoresistenz
28	—	—	.	.	+
29	—	+	.	.	+
30	—	—	.	.	+
31	—	—	.	.	+
32	+	+	.	.	—
33	—	—	.	.	—
34	—	—	.	.	—
35	—	—	.	.	+
36	—	+	.	.	+
37	+	+	.	.	—
38	—	—	.	.	+
39	—	+	.	.	+
40	—	—	.	.	+
41	—	—	.	.	+
42	+	—	diffus	+	+
43	+	+	„	+	+
44	+	+	„	+	+
45	—	—	„	+	+
46	+	—	„	+	+
47	—	—	„	geh.	—

No.	Aeskulinspaltung	Mannitspaltung	Wachstum in Bouillon	Wachstum in 20 % Galle-Peptonwasser	Thermoresistenz
48	+	+	diffus	+	+
49	+	+	„	+	+
50	—	+	bröcklig	geh.	—
51	+	—	diffus	„	—
52	—	+	bröcklig	„	—
53	+	—	diffus	+	—
54	—	+	bröcklig	geh.	—
55	+	+	diffus	+	+
56	+	—	„	+	+
57	+	—	„	+	+
58	—	—	bröcklig	geh.	—
59	+	±	diffus	+	+
60	±	—	„	+	—
61	—	—	„	+	+
62	+	—	„	+	—
63	+	+	„	+	+
64	—	—	bröcklig	+	—
65	—	—	„	+	—
66	+	+	diffus	+	+

Aus der Tabelle geht hervor, daß 28 von 66 Stämmen = 42,5 Proz. Aeskulin, 25 von 66 = 31,9 Proz. Mannit, 11 von 27 = 40,7 Proz. Raffinose spalten. In 20 Proz. Galle-Peptonwasser vermehrten sich 19 von 25 = 76 Proz., gehemmt wurden 6 = 24 Proz., abgetötet wurde keiner. Als thermoresistent erwiesen sich 35 von 66 Stämmen = 53,0 Proz. Diffuse Trübung in Bouillon riefen 48 von 54 Stämmen = 88,9 Proz. hervor, während 6 = 11,1 Proz. bröcklig wuchsen. Es muß hierbei jedoch erwähnt werden, daß ein nicht geringer Teil der diffus wachsenden Stämme bei Lupenbetrachtung doch feinste Flockenbildung erkennen ließ, so daß die Kulturen nicht wie die von Enterokokken ohne weiteres zur Agglutination verwandt werden konnten.

Ueberblickt man die Eigenschaften der Milchsäurestreptokokken, so scheint sich zunächst ein weit weniger einheitliches Bild zu bieten als es bei den Enterokokken und den Viridansstreptokokken zu finden war. Von einer völligen Identität der Milchsäurestreptokokken in ihrer Gesamtheit mit den Enterokokken oder gar mit den Viridansstreptokokken kann nicht die Rede sein. Zwar verhielten sich bezüglich der Galleresistenz die jedoch auch dem Viridans gelegentlich zukommt, alle Stämme wie Enterokokken. Aber das für Enterokokken obligate Merkmal der

Aeskulinspaltung zeigten nur 42,5 Proz. von ihnen. Immerhin ließen sich 35 = 53 Proz. durch die Thermoresistenz und 47 Stämme = 71,1 Proz. durch Thermoresistenz oder Aeskulinspaltung oder gleichzeitiges Vorhandensein beider Eigenschaften gegen den Streptococcus viridans abgrenzen. Andererseits entsprachen 19 Stämme = 28,9 Proz. durch das Fehlen der Aeskulinspaltung und der Thermoresistenz dem Viridanstypus, wobei als bemerkenswert hervorzuheben ist, daß alle 6 bröcklig wachsenden und alle 6 durch Gallepeptonwasser zwar nicht abgetöteten, aber doch in ihrer Entwicklung gehemmten Stämme dieser Gruppe angehörten. Die mannitspaltenden Stämme verteilen sich auf beide Gruppen in der Weise, daß sie in der ersten 36,2 Proz., in der zweiten nur 21,1 Proz. ausmachen. Also auch in dieser Beziehung nähert sich die erste Gruppe dem Enterokokken-, die zweite dem Viridanstypus.

Der scheinbare Widerspruch, daß sowohl die Enterokokken wie die Viridansstreptokokken der Mundhöhle mit den „Milchsäurestreptokokken" identisch sein sollen, während wir tiefgreifende Unterschiede zwischen beiden Gruppen festgestellt haben, findet also eine Aufklärung durch den Nachweis, daß die Milchsäurestreptokokken keinen einheitlichen Typus darstellen. Daß einzelne Varietäten dieses Typus unterschieden werden können, haben schon frühere, besonders amerikanische Untersucher betont. Durch unsere Untersuchungen glauben wir aber gezeigt zu haben, daß sich unter den Milchsäurestreptokokken eine keineswegs kleine Gruppe in ihren Eigenschaften von dem typischen, dem Enterokokkus nahestehenden Streptococcus lactis, so sehr entfernt und sich dem Streptococcus viridans so weit annähert, daß sie als besonderer Typus abgetrennt werden sollte.

Weitere Untersuchungen an einem größeren Material müssen zeigen, in welcher Häufigkeit dieser Typus vorkommt und ob sich bestimmte Beziehungen zur Herkunft der Milch feststellen lassen.

Aber auch für den typischen Streptococcus lactis können wir eine völlige Identität mit den Enterokokken, wenigstens den beim Menschen vorkommenden, nicht anerkennen. Denn auch von den nach Abtrennung der viridansähnlichen übrig bleibenden 47 Stämmen zeigten nur 28 = 59,6 Proz. das für Enterokokken typische Merkmal der Aeskulinspaltung. Ob etwa die Darmstreptokokken des Rindes, für die Winslow und Palmer[1]), sowie Armstrong und Fuller[2]) und andere Autoren kulturelle Unterschiede gegenüber den menschlichen Stuhlstreptokokken festgestellt haben und mit deren Vorkommen in der Kuhmilch wohl eher zu rechnen ist als mit dem humaner Enterokokken, größere Aehnlichkeit mit den Milchsäurestreptokokken zeigen, bedarf noch der Untersuchung.

Auf jeden Fall erscheint es uns zweckmäßiger, die Bezeichnung als Milchsäurestreptokokken für die im menschlichen und tierischen Organismus vorkommenden Streptokokken zu vermeiden, da durch diese verallgemeinernde Bezeichnung eine Einheitlichkeit vorgetäuscht wird, die, wie wir gezeigt haben, in Wirklichkeit nicht besteht.

* * *

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß dem Bemühen, innerhalb der Streptokokkengruppe einzelne Typen abzugrenzen, von der Mehr-

1) Winslow, C.-E., and Palmer, Journ. of infect. diseas. Vol. 7. 1910. p. 1.
2) Fuller, C. A., and Armstrong, V. A., Journ. of infect. diseas. Vol. 13. 1913. p. 142.

zahl der Bakteriologen, besonders in Deutschland, ein gewisser Skeptizismus entgegengebracht wird. Man ist der Ansicht, daß den Versuchen einer Einteilung auf Grund bestimmter, hauptsächlich biochemischer Eigenschaften, die natürliche Grundlage fehle, daß vielmehr in Wirklichkeit sich alle möglichen Kombinationen dieser Eigenschaften realisiert finden und somit fließende Uebergänge zwischen sämtlichen Typen bestehen.

Demgegenüber haben Andrewes und Horder[1]) den Begriff der „Typenzentren“ geprägt, die die am häufigsten vertretenen Kombinationen darstellen und um die sich in geringerer Häufigkeit Stämme gruppieren, denen das eine oder andere der für den Typus charakteristischen Merkmale fehlt oder die durch den Besitz eines oder mehrerer nicht obligater Merkmale ausgezeichnet sind.

Ob in der Tat die Typenzentren als Aequivalent echter Arten anzusehen sind, läßt sich mit Sicherheit nicht entscheiden, da die Möglichkeit des Kreuzungs- und Vererbungsversuches, der bei den geschlechtlich sich fortpflanzenden Lebewesen die Beantwortung solcher Fragen erlaubt, bei den Bakterien nicht gegeben ist. Immerhin wird man auf Arteinheit schließen dürfen, wenn sich mehrere Merkmale häufiger miteinander vergesellschaftet finden als es nach den Zufallsgesetzen zu erwarten wäre, und wenn diese Merkmale nicht etwa als verschiedene Ausdrucksformen einer zugrunde liegenden Eigenschaft zu deuten, sondern ganz heterogener Natur sind. In diesem Sinne wird man auf das Zusammentreffen mehrerer Vergärungsfähigkeiten vielleicht weniger Gewicht legen, da hier Wirkungen ein und desselben Enzyms vorliegen können. Sieht man aber, wie bei den Enterokokken, so verschiedenartige Eigenschaften wie Aeskulinspaltung, Galleunempfindlichkeit, Thermoresistenz und diffuses Wachstum in Bouillon miteinander vergesellschaftet, so wird man von idiotypisch fixierten Eigenschaften einer Art, eines Biotypus, sprechen dürfen. Hieran würde auch nichts geändert, wenn unter künstlich gesetzten veränderten Bedingungen der Verlust oder Neuerwerb bestimmter Eigenschaften zur Beobachtung käme.

Die Möglichkeit einer Typeneinteilung oder, wenn man will, Artabgrenzung innerhalb der Streptokokkengruppe, wie überhaupt in der Bakteriologie, hat nicht nur praktischen Wert für diagnostische, pathogenetische, therapeutische und prophylaktische Probleme, sondern ist auch von allgemeiner Bedeutung für Fragen der Artbildung und Systematik. Wir glauben durch unsere Untersuchungen einen Beitrag in dem Sinne geliefert zu haben, daß ein zu weit gehender Skeptizismus gegenüber solchen Versuchen nicht gerechtfertigt erscheint.

Zusammenfassung.

Durch Untersuchung von 152 Enterokokken- und 82 Viridansstreptokokkenstämmen mittels verschiedener Methoden wurde versucht eine sichere Grundlage für die Unterscheidung beider Typen zu schaffen. Es ergab sich, daß diese Unterscheidung nur in sehr seltenen Fällen auf Schwierigkeiten stößt. Als obligate Merkmale des Enterokokkus sind Aeskulinspaltungsvermögen und Galleresistenz, als fast konstante oder häufig vertretene Thermoresistenz, Mannitspaltungsvermögen, dif-

1) Andrewes and Horder, Lancet, 1906. Vol. 2. p. 708.

fuses Wachstum in Bouillon, grauweiße Eigenfarbe der Kolonien auf der Blutplatte, die Morphologie (ovale Diplokokken) zu bezeichnen. Für den Streptococcus viridans kann als obligat die Thermolabilität, als mehr oder weniger konstant das Fehlen des Aeskulin- und Mannitspaltungsvermögens und der Galleempfindlichkeit, das bröcklige Wachstum in Bouillon, das Auftreten in Ketten angesehen werden.

Im Hinblick auf die Literaturangaben, daß einerseits die Enterokokken, andererseits die Viridansstreptokokken der Mundhöhle mit den Milchsäurebakterien identisch sein sollen, wurden 66 aus Milch gezüchtete Milchsäurestreptokokkenstämme mit gleichen Methoden untersucht. Es ergab sich hierbei, daß unter den Milchsäurestreptokokken zwei Typen zu unterscheiden sind, von denen der eine sich mehr dem Enterokokkus, der andere dem Streptococcus viridans nähert, ohne daß eine völlige Identität besteht. Die Bezeichnung im menschlichen oder tierischen Organismus vorkommender Streptokokken als Milchsäurestreptokokken schlechthin dürfte daher in Zukunft zu vermeiden sein.

Nachdruck verboten.

Ueber hämolytische Enterokokken.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin (Dir.: Dr. Kurt Meyer).]

Von **Kurt Meyer.**

In einer vor einiger Zeit erschienenen Arbeit, in der wir[1]) auf die Bedeutung des Enterokokkus für die Infektionen der Harn- und Gallenwege hinwiesen, gaben wir an, daß wir bei frisch gezüchteten Enterokokken niemals auch nur eine Andeutung von Hämolyse auf der Blutplatte gefunden hätten, während wir allerdings nach längerer Fortzüchtung bei einigen Stämmen hämolytisches Wachstum auftreten sahen.

Auch in der Literatur — es kommt hier nur die ausländische in Frage — wird allgemein angegeben, daß die Enterokokken keine Hämolyse hervorrufen. So beobachtete, um nur die letzten und sorgfältigsten Arbeiten anzuführen, Dible[2]) unter 150 Stuhlstreptokokkenstämmen nur einen, der hämolytisch wuchs, nach allen seinen sonstigen Eigenschaften aber als Streptococcus haemolyticus angesprochen werden mußte, und Bagger[3]) betont in seiner Monographie über Enterokokken, daß Hämolyse bei ihnen niemals beobachtet wird.

Inzwischen haben wir uns überzeugen müssen, daß unsere früher geäußerte Ansicht und die Angaben der Literatur nicht zutreffend sind. Es sind uns eine ganze Anzahl von Enterokokkenstämmen begegnet, die auf der Blutplatte von vornherein in Kolonien mit breitem hämolytischen Hof wuchsen und sich in dieser Beziehung ganz wie ein Streptococcus haemolyticus verhielten; dagegen zeigten sie sonst alle

1) Meyer, Kurt, Klin. Wochenschr. 1924. S. 2291.
2) Dible, I. H., Journ. of Pathol. a. Bact. Vol. 24. 1921. p. 1.
3) Bagger, S. V., Undersøgelser over Enterococcer. Kopenhagen 1925.

typischen Eigenschaften des Enterokokkus: diffuses Wachstum in Bouillon, die Fähigkeit der Aeskulin- und Mannitspaltung, Galleresistenz und zum Teil Thermoresistenz. Die Mehrzahl wurde durch spezifische Enterokokkensera agglutiniert.

In Serumbouillonkulturen bildeten sie ein filtrierbares Hämolysin, dessen Menge das Maximum nach 6—8stünd. Bebrütung erreichte, während es in 24stünd. Kulturen meist bereits völlig verschwunden war. Durch halbstündiges Erwärmen auf 60° wurde es zerstört. Der Versuch der Antilysinerzeugung bei einem Kaninchen hatte ein negatives Ergebnis. Das Hämolysin verhielt sich somit ganz wie das des Streptococcus haemolyticus.

Im Tierversuch erwiesen sich die Stämme als avirulent. Intraperitoneale Injektionen von 1 ccm einer 24stünd. Bouillonkultur wurde von Mäusen anstandslos vertragen. Sukutane Injektion rief eine spontan zur Heilung kommende Phlegmone hervor. Bei Kaninchen hatten wiederholte intravenöse Injektionen von 5 ccm Bouillonkultur keine merkbaren Erscheinungen oder makroskopische anatomische Veränderungen zur Folge.

Mit dem Ausfall der Tierversuche im Einklang stand das Ergebnis des bakteriziden Plattenversuches nach Schottmüller[1]), wie sich aus der folgenden Tabelle ergibt:

Tabelle.

	Zahl der Kolonien in 1 ccm Blut		
	Bei Beginn	Nach 3stünd. Bebrütung	Nach 6stünd. Bebrütung
Enterococcus 1	10	0	0
haemolyticus 2	90	0	0
3	63	21	5
Streptococcus 1	37	3200	∞
haemolyticus 2	502	6400	∞
3	768	7200	∞

Während die hämolytischen Streptokokken sich ungehemmt vermehrten, waren die Enterokokken bereits nach 3 Stid. entweder völlig abgetötet oder ihre Menge stark vermindert.

Das Vorkommen der hämolytischen Enterokokken darf als selten angesehen werden. Die Zahl der von uns beobachteten Stämme beträgt 9 bei einem Material von schätzungsweise 300 näher untersuchten Enterokokkenstämmen. Ihr prozentualer Anteil muß aber noch niedriger veranschlagt werden, da wir außerdem noch zahlreiche Blutplattenausstriche von Stühlen und Duodenalsäften auf das Vorhandensein hämolytischer Kolonien durchmusterten, ohne die Kolonien grünwachsender Enterokokkenstämme zu beachten. Von den 9 Stämmen waren 3 aus Fäzes, 2 aus Duodenalsaft, 2 aus Pyelitisurin, 1 aus Cholecystitisgalle und einer aus einem vereiterten Douglashämatom gezüchtet.

Wir beobachteten ferner bei einem Stamm, der anfangs grün gewachsen war, als er nach längerer Fortzüchtung auf der Blutplatte

1) Schottmüller: In Kraus-Uhlenhuth, Handb. d. mikrobiolog. Technik. Berlin 1923. Bd. 2.

ausgestrichen wurde, das Auftreten hämolytischer Kolonien, die bei der Weiterimpfung diesen Charakter beibehielten.

Weiter konnten wir bei einem Kaninchen, das mit einem nicht hämolytischen Stamm wiederholt intravenös behandelt worden war, bei der 10 Tage nach der letzten Injektion vorgenommenen Tötung aus der Niere hämolytisch wachsende Kokken herauszüchten, die sich bis auf diese Eigenschaft kulturell wie agglutinatorisch durchaus wie der injizierte Stamm verhielten. Die aus Gallenblase und Milz gezüchteten Kokken hatten dagegen ihren ursprünglichen Charakter bewahrt.

Andererseits sahen wir bei einem hämolytischen Stamm bei Aussaat von einer älteren Bouillonkultur auf der Blutplatte grün wachsende Kolonien auftreten.

Allerdings ist diesen Beobachtungen gegenüber der Einwand möglich, daß die Ausgangskulturen nicht einheitlich waren, sondern aus hämolytischen und nicht hämolytischen Stämmen zusammengesetzt waren und daß die eine Komponente zeitweise in ihrer Entwicklung unterdrückt wurde. Zwar sind wir sicher, von isolierten Kolonien ausgegangen zu sein, geben aber zu, daß jener Einwand hierdurch nicht völlig entkräftet wird. An sich würde aber eine solche Variabilität nur im Einklang stehen mit ähnlichen Erfahrungen, die man bei Streptokokken gemacht hat, und daß bei den Enterokokken allgemein eine Tendenz zum Auftreten der Hämolysinbildung besteht, ergibt sich auch daraus, daß ihr Wachstum auf der Blutplatte bei längerer Fortzüchtung weit häufiger, als wir früher geglaubt hatten, hämolytisch wird, wenn auch die Stärke der Hämolyse deutlich geringer bleibt als bei den von vornherein Hämolyse zeigenden Stämmen. .

Offenbar sind solche hämolytischen Enterokokkenstämme bisher für gewöhnliche hämolytische Streptokokken gehalten worden. In der Tat ist das Aussehen auf der Blutplatte bei beiden das gleiche, während allerdings die meist vorhandenen lanzeolären Diploformen sowie die diffuse Trübung der Bouillonkultur den Verdacht auf Enterokokken erwecken müssen, der durch Prüfung des Verhaltens gegenüber Aeskulin und Mannit, der Galleempfindlichkeit und der Thermoresistenz leicht bestätigt werden kann.

Auch in der Literatur haben wir einige Beobachtungen gefunden, bei denen es sich sehr wahrscheinlich um hämolytische Enterokokken gehandelt hat. So erwähnt Heim[1]) einen hämolytisch wachsenden „Milchsäurestreptokokkus" und W. Lehmann[2]) führt in seiner kürzlich erschienenen Arbeit unter den Streptokokkenstämmen, die er wegen des langsamen Eintritts der Hämolyse mit Hamm[3]) als Streptococcus lentus bezeichnet, mehrere Stämme an, in denen nach ihrer Herkunft (Urin, Cervicalsekret) hämolytische Enterokokken zu vermuten sind.

Ganz neuerdings berichten auch Todd und Famulener[4]) in einer uns nur durch ein Referat bekannt gewordenen Mitteilung, daß sie aus Stühlen hämolytische Kokken gezüchtet haben, die sie wegen ihrer Gestalt und ihres Verhaltens bei der Prüfung auf Galle- und Hitzeresistenz als hämolytische Enterokokken bezeichnen zu sollen glauben.

---

1) Heim, L., Ztschr. f. Hyg. Bd. 101. 1924. S. 104.
2) Lehmann, W., Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 150. 1926. S. 127.
3) Hamm, A., Die puerperale Wundinfektion. Berlin 1922.
4) Todd, M.B., u. Famulener, L. W., Abstracts of Bact. Vol. 9. 1925. p. 10.

Zusammenfassung.

Es wird hingewiesen auf das Vorkommen hämolytisch wachsender Enterokokken, deren Kolonien auf der Blutplatte denen des Streptococcus haemolyticus gleichen, die sich aber kulturell und zum Teil serologisch ohne Schwierigkeit als Enterokokken erkennen lassen.

Untersuchungen und Beobachtungen an Pneumokokken.

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig (Dir.: Geh.-Rat W. Kruse).]

Von Prof. **K. Hintze.**

Mit 1 Abbildung im Text.

In früheren Mitteilungen (Münch. med. Wochenschr. 1921 Nr. 32: Arch. f. Hyg. Bd. 94. 1924) haben wir bereits über unsere Untersuchungen berichtet. Dieselben wurden unterdessen fortgesetzt. Heute soll eine zusammenfassende Darstellung gegeben werden.

Es wurden im ganzen 200 Pneumokokkenstämme gesammelt, von denen 134 von typischen, 46 von atypischen Pneumonien stammten und der Rest gleich 20 verschiedener Herkunft war. Als typische Pneumonien wurden solche angesehen, die plötzlich und meist mit Frost eingesetzt hatten; die klinische Diagnose lautete meist krupöse Pneumonie oder einfach Pneumonie. Die allmählich beginnenden oder als Grippe-Pneumonie bezeichneten wurden unter die atypischen Formen eingereiht.

Die Reinzüchtung der Stämme geschah stets durch i. p. Einspritzung einer Sputumflocke in die Maus. Alle anderen Methoden zur Reingewinnung treten gegenüber diesem Verfahren zurück, wie das auch besonders von amerikanischen und englischen Autoren, die sehr große Reihenuntersuchungen an einem außerordentlich umfangreichen Material zu machen Gelegenheit hatten, ausdrücklich hervorgehoben wird (Glynn, Digby, Lettice Med. Res. Council. 1923, p. 1. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 76. 1924. S. 481). Aus dem Herzblut und den verschiedenen Organen erhält man die Pneumokokken, wenn auch keineswegs immer ganz rein, so doch wenigstens soweit angereichert, daß die Fortzüchtung unschwer gelingt. Von amerikanischen Untersuchern ist behauptet worden, daß nur noch der Bazillus Friedländer, Influenzbazillen und gelegentlich der Micrococcus catarrhalis und Staphylokokken neben Pneumokokken und Streptokokken sich in der Maus vermehren. Der Influenzabazillus soll dabei in ähnlicher Weise in die Blutbahn übergehen, was die übrigen Bakterien nicht tun. Wir fanden als eine ziemlich häufige Verunreinigung ein kleines Gram negatives Stäbchen, das aber mit dem Influenzbazillus offenbar nicht identisch ist.

Die Weiterzüchtung geschah regelmäßig auf 7—10 % Hammelblutagarplatten, die für diese Zwecke recht geeignet erscheinen, da man bei nicht zu dicken Platten meist schon mit bloßem Auge an dem

grünlichen Hofe die Pneumokokken erkennen kann. Kaninchenblut geht natürlich auch, aber Hammel sind ja in der Lage, größere Mengen Blut abgeben zu können ohne auch bei wiederholter Punktion Schaden dadurch zu erleiden. Die Ueberimpfung geschah dann etwa alle Woche einmal, weil dann die Platten durch Luftkeime meist so verunreinigt zu sein pflegen, daß eine Ueberimpfung sich empfiehlt. Die Lebensfähigkeit auf diesen Nährböden ist noch keineswegs erloschen. Wir haben folgende Beobachtung gemacht. Neben den Platten wurden die Stämme auch auf Blutagarschrägröhrchen geimpft und diese einfach mit einem Wattepfropfen verschlossen im Laboratorium im Dunkeln in einem Schubfache aufbewahrt. Nachdem wir früher schon festgestellt hatten, daß sich Kulturen, wenn keine Verunreinigung hinzukommt, bis zu 10 Monaten am Leben erhalten, konnten wir kürzlich noch eine viel weiter gehende Beobachtung machen. Am 22. Juli 1923 und am 15. Dez. 1923 wurden eine Reihe von Pneumokokkenstämmen in der angegebenen Weise auf Blutagarschrägröhrchen geimpft, mit Watte ohne Vaselin oder Paraffin verschlossen und nach einer Nacht im Brutschrank im Laboratorium in einem Schubfach vor Licht geschützt aufbewahrt. Am 6. April 1926, also nach 32 bzw. 27 $^1/_2$ Monaten, wurde in die vollkommen eingetrockneten Röhrchen etwas Zuckerbouillon gegeben und sie eine Nacht in den Brutschrank gestellt. Am andern Morgen ließen sich aus 37,8 bzw. 53,3 Proz. der Röhrchen noch die seiner Zeit geimpften Pneumokokken herauszüchten. Daß es sich tatsächlich um dieselben Stämme handelt, ging, abgesehen von ihrem Aussehen und Verhalten auf den Nährböden, besonders auch daraus hervor, daß sie, soweit sie überhaupt agglutiniert hatten und wir noch die homologen Seren besaßen, prompt agglutinierten. Also auch diese Fähigkeit war durch das lange Ruhestadium nicht verloren gegangen.

Die Beobachtung scheint doch auch praktisch von Wichtigkeit zu sein. Denn wenn Pneumokokken unter diesen künstlichen Bedingungen des Laboratoriums sich 2 $^1/_2$ Jahre am Leben zu erhalten vermögen, so wird man mit der Möglichkeit rechnen müssen, daß sie auch unter den Bedingungen wie sie das tägliche Leben mit sich bringt, in einem Sputumballen an einem vor Licht geschützten Orte sich lange Zeit erhalten können. Bringt sie ein Zufall dann auf einen günstigen Nährboden, so können sie eventuell von neuem auskeimen. Für das Verständnis der Epidemiologie könnte diese Erscheinung, diese überraschend lange Lebensfähigkeit der Pneumokokken, die im allgemeinen doch als recht hinfällig angesehen werden, doch unter Umständen von Bedeutung sein. Wir haben daraufhin neuerdings versucht, ob es auch gelingt durch Zusatz von Gelatine oder Agar-Agar zu Bouillonkulturen sie am Leben zu erhalten; die Zeit ist aber noch zu kurz, um darüber ein Urteil zu fällen.

Morphologisch wurde auch bei der langen Fortzüchtung keine wesentliche Veränderung beobachtet. Unser ältester dauernd weitergezüchteter Stamm (37) wurde am 10. 1. 1922 isoliert und stellt heute (15. 5. 1926) die 236. Generation dar. Von da an sind so ziemlich alle Generationen vertreten bei den verschiedenen Kulturen. Die Lanzettform pflegt ziemlich schnell zu verschwinden, die rundliche Form sich aber dann im wesentlichen zu erhalten; die Neigung zu zweien zusammenzuliegen bleibt meistens bestehen. Niemals wurde ein Uebergang in Stäbchenform beobachtet. Vorgetäuscht kann eine solche allerdings werden bei Zusatz von Chemikalien, wie folgender Versuch

zeigt. Auf eine mit Nr. 37 besäte Aszitesagarplatte wurde etwas Kalium bichromat. gegeben und die Platte dann in den Brutschrank gestellt. Das Kal. bichrom. diffundiert in den Agar hinein, so daß die Pneumokokken bei ihrem Wachstum unter den Einfluß der Substanz gelangen. Am nächsten Morgen sieht man, daß an der Stelle der stärksten Konzentration nichts gewachsen ist, dann treten, erst spärlich dann zunehmend faden- und streifenförmige Gebilde auf, die allmählich in kleine Kolonien übergehen. Außerhalb des Bereichs der Diffusionswirkung, ganz an der Peripherie sieht man ganz normale Kolonien. Präparate der Streifen und Fäden ergeben eigentümliche stäbchenartige Gebilde in den verschiedensten Uebergängen wie sie Zeichnung[1]) deutlich erkennen läßt.

Es wurde nun der Versuch gemacht, immer wieder von den unter dem Einfluß der chemischen Substanz entstandenen Fäden überzuimpfen, und die jungen Kulturen immer von neuem der Einwirkung des Kal. bichrom. in der beschriebenen Weise auszusetzen. Der Versuch wurde durch 25 Generationen fortgesetzt und die Pneumokokken dann wieder auf einen gewöhnlichen Aszitesagar-Nährboden gebracht: es wuchsen wieder dieselben Kolonien wie im Anfang und das Präparat zeigte keine Veränderungen in der Kokkenform. Es hatte sich also nur um eine unter der Giftwirkung entstandene pathologische Wuchsform gehandelt, die keinerlei Neigung zeigte, in eine Mutation überzugehen. Durch mehrere andere chemische Substanzen ließ sich diese Erscheinung nicht hervorrufen. Auffallend war auch, daß es **nur** bei Nr. 37 und den ihr näher verwandten Stämmen (40, 41, 42) gelang, diese Veränderungen hervorzurufen, während die übrigen nur insofern reagierten, als im Bereiche der stärksten Konzentration auf der Platte nichts wuchs, weiter entfernt aber spärlich Kokken, die dann allmählich in normale Kolonien übergingen. Bei keinem der anderen zahlreichen untersuchten Stämmen kam es zu derartigen abnormen Wuchsformen.

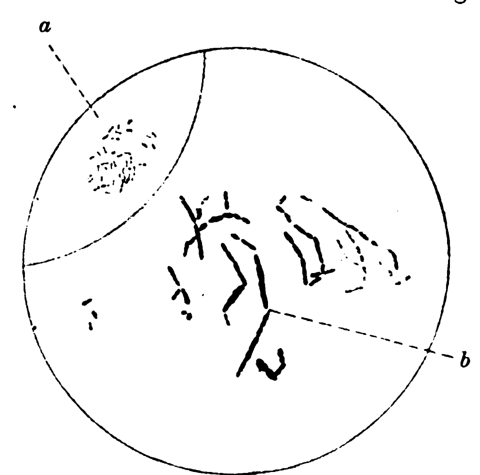


Fig. 1. *a* = von der Peripherie der Platte, *b* = unter dem Einfluß von Kal. bichrom. Zeiß, $^1/_{12}$ Imm. Ok. 1.

Die eben erwähnte Gruppe verhielt sich auch spektroskopisch etwas anders als die übrigen Stämme insofern, als sie erheblich schneller als die meisten anderen Methämoglobin bildeten. Im Spektroskop läßt sich ja das Auftreten von Methämoglobin leicht feststellen. Unsere Versuchsanordnung war die folgende: Zu etwa 18 Stunden alten Zuckerbouillonkulturen der verschiedensten Stämme von Pneumokokken und Streptokokken wurden etwa 10 Tropfen einer Hämoglobinlösung zugesetzt, die durch Auflösung von gewaschenen Hammelblutkörperchen in destilliertem Wasser gewonnen worden war und etwa die Farbe einer

1) Diese Zeichnung wurde direkt nach dem Präparat von Herrn Dr. M. Fischer freundlichst angefertigt.

dunkelroten Rose hatte. Bringt man die Röhrchen sofort vor den Schlitz des Spektroskops, so erkennt man deutlich die Hämoglobinstreifen. Die Bakterien vorher abzuzentrifugieren erscheint unnötig, da durch ihre Anwesenheit das Bild kaum beeinträchtigt wird. Man kann nun feststellen nach wie viel Minuten unter Abblassen der Hämoglobinstreifen bei den einzelnen Stämmen die Methämoglobinbildung einsetzt und welche Stärke sie erreicht. Dabei zeigte sich in sehr zahlreichen Versuchen an den verschiedensten Stämmen, daß erhebliche Unterschiede beobachtet werden können. Bei einer eng zusammengehörenden Gruppe, eben den erwähnten Nr. 37, 40, 41, 42, trat fast momentan ein makroskopisch deutlich sichtbarer Farbenumschlag ein, in rotbraun bis schmutzig gelbbraun; im Spektroskop waren die Hämoglobinstreifen nur noch mehr oder weniger abgeblaßt wahrzunehmen, dafür aber der Methämoglobinstreifen erschienen. Auch ohne zu wissen, wo die einzelnen Stämme in dem Gestell standen, konnte man sofort mit bloßem Auge ihre An- oder Abwesenheit feststellen. Bei den anderen trat erst nach längerer Zeit, oft erst nach Stunden die Methämoglobinbildung mehr oder weniger deutlich auf. Schließlich scheint bei allen Pneumokokken bei dieser Versuchsanordnung sich Methämoglobin nachweisen zu lassen, wie übrigens auch bei anderen Bakterien unter denselben Bedingungen. Man kann auch das Hämoglobin der Bouillon zusetzen und sie dann erst beimpfen, aber der ganze Vorgang spielt sich dann erheblich langsamer ab, da die die Methämoglobinbildung hervorrufende Substanz erst von den Pneumokokken gebildet werden muß und daher in einer älteren Kultur schon angereichert vorhanden ist. Zentrifugiert man die Pneumokokken ab, wäscht sie und setzt dann die Hb.-Lösung in derselben Weise und Menge der Aufschwemmung zu, so tritt keine Veränderung ein. Als nach über zwei Jahre langer Fortzüchtung auf den Hammelblutplatten die Versuche nochmals aufgenommen wurden, zeigte sich, daß die erwähnten Stämme sehr erheblich an dieser Fähigkeit eingebüßt hatten und erst nach längerer Zeit die Methämoglobinstreifen zeigten. Auch bei den anderen lange fortgezüchteten Stämmen schien die Fähigkeit sich verringert zu haben.

Ueber Wesen und Bedeutung dieser Methämoglobinbildung ist schon recht viel geschrieben worden. Amerikanische Untersucher, die sich wohl am eingehendsten mit der Frage beschäftigt haben, sprechen sich dahin aus (Avery and Neill, Journ. Exp. Med. Vol. 39. 1924. p. 543; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 77, 1924. S. 195; Morgan, ibid.), daß auf der Höhe des Wachstums, zwischen der 7. u. 10 Std., die Azidität zuzunehmen beginnt; kurz darauf tritt dann auch Peroxyd auf, das zur Umwandlung von Hämoglobin in Methämoglobin erforderlich zu sein scheint. Wasserstoffsuperoxyd scheint es aber nicht zu sein, da dieses nur katalasefreies kristallinisches Hämoglobin zu verwandeln vermag, die Pneumokokken aber die Umwandlung auch anscheinend im Blute selbst bei Anwesenheit von Katalase vorzunehmen vermögen. Die Oxydation zu Methämoglobin und die Reduktion wieder zu Hämoglobin ist ein reversibler Vorgang, der von der Anwesenheit oder dem Fehlen von Sauerstoff abhängig ist. Sterile Gewebsextrakte sind imstande Methämoglobin zu Hämoglobin zu reduzieren. Daher kommt es, daß unter Umständen größere Mengen von Methämoglobin im Organismus gebildet werden können, ohne daß sie im strömenden Blute nachweisbar sind. Ihre Anhäufung im Blute ist wahrscheinlich nicht nur ein Zeichen der Bildung großer Methämoglobinmengen, sondern auch der

Vergiftung der normalen Reduktionsmechanismen der tierischen Gewebe (Neill, Journ. Exp. Med. Vol. 41. 1925. p. 299; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 80. 1925/26. S. 9).

Da es sich hier um eine im wesentlichen physiologisch-chemische Frage handelt, welche spezielle Kenntnisse auf diesem schwierigen Gebiete voraussetzt, möchten wir uns auf eine weitere Erörterung nicht einlassen. Es kam uns nur darauf an darauf hinzuweisen, daß sich schon bei dieser doch ziemlich groben Versuchsanordnung bei den verschiedenen Stämmen schon nicht unerhebliche Unterschiede in ihrer Wirkungsweise nachweisen lassen, besonders wenn sie noch nicht längere Zeit auf künstlichen Nährböden weitergezüchtet worden sind.

Dagegen scheint die Eigentümlichkeit mancher, oder man kann fast sagen, der meisten Pneumokokken, auf der Blutplatte, wenn sie nicht zu dick ist und zu viel Blut enthält (am besten etwa 7 Proz.), sich mit einem grünen Hof zu umgeben, sich auch bei jahrelanger Fortzüchtung zu erhalten. Bei einer ganzen Reihe von Stämmen, die wir bis zu 4 Jahren ununterbrochen weitergezüchtet haben, ist diese Fähigkeit bisher unverändert erhalten geblieben. Bei andern war sie von Anfang an nicht vorhanden und ist auch heute noch nicht aufgetreten. Die einzelnen Stämme scheinen sich darin sehr konservativ zu verhalten. Ein hämolytischer Stamm (Nr. 73) hatte seine Fähigkeit zur Hämolyse verloren, nachdem er nach $2^1/_2$jähriger Ruhe (s. o.) aus den vollständig eingetrockneten Röhrchen wieder hervorgezüchtet war. Bei zwei ursprünglich als „mucosus" imponierenden Stämmen ging diese Eigenschaft allmählich verloren; bei einem andern (141) blieb sie durch Jahre erhalten.

Daß die Virulenz eine außerordentlich schwankende und labile Eigenschaft ist, bedarf ja keiner besonderen Hervorhebung mehr; es ist eine allgemein bekannte Tatsache. Bisher scheint es noch niemand gelungen zu sein, Mittel zu finden, avirulent gewordene Keime wieder stark virulent zu machen. Nur wenige Stämme behalten diese Eigenschaft längere Zeit bei. Durch Zusatz von Agressin verschiedener Art (z. B. einige Tropfen einer 1proz. Milchsäurelösung, oder einige Tropfen eines Agressins aus einer Bouillonkultur von Shiga-Kruse Dysenteriebazillen) kann allerdings die Virulenz in einigen Fällen gesteigert werden, erreicht aber doch nicht die volle Stärke. Die Natur verfügt eben doch über andere Mittel, als wir im Laboratorium. Daneben spielt die Individualität des Stammes offenbar eine sehr wesentliche Rolle.

Eine solche ist bis zu einem gewissen Grade auch schon bei so niederen Lebewesen wie den Bakterien vorhanden; das zeigt sich immer mehr bei den verschiedensten Mikroorganismen, doch so, daß sie noch nicht so scharf ausgeprägt ist, wie bei den höheren Organismen, so daß sich unter Umständen größere Gruppen mit mehr gemeinsamen Eigenschaften zusammen fassen lassen. Daher das augenblicklich herrschende Bestreben, Typen oder Gruppen in den einzelnen Arten aufzustellen und sie voneinader abzugrenzen.

Da die Virulenz ein viel zu unsicheres Kriterium ist, hat man die Präzipitation und die Komplementbindung und vor allem die Agglutination herangezogen. Die beiden ersten Verfahren geben wenig befriedigende Ergebnisse. Auch wir haben zahlreiche Versuche damit gemacht, sind aber immer wieder davon zurückgekommen, da die Resultate zu unsicher und widersprechend sind. Christensen (C. r. Soc. de Biol. 1922. 86. p. 459; Centralbl. f. Bakt. Abt. I.

Orig. Bd. 75. S. 175.) hat allerdings ein Verfahren für die Komplementbindung angegeben, das ausgezeichnete Resultate ergeben soll, aber so umständlich ist, daß es kaum Nachahmer finden wird und anscheinend auch nicht gefunden hat. Es bleibt also nur die Agglutination, der auch wohl von den meisten Untersuchern die größte und entscheidende Bedeutung beigemessen wird. Amerikanische Untersucher, die sich ja gerade mit der Untersuchung der Pneumokokken sehr eingehend und in großem Umfange beschäftigt haben, scheinen zu Herstellung der Seren sich hauptsächlich des Pferdes bedient zu haben. Die meisten deutschen Laboratorien werden sich wohl mit dem bescheideneren Kaninchen haben begnügen müssen. Alle unsere Seren stammen ebenfalls vom Kaninchen.

Für die beste Art der Herstellung sind die verschiedenartigsten Vorschläge gemacht worden, wohl ein Beweis dafür, daß die Ergebnisse nicht immer so ausgefallen sind, wie man sie wünschte. Einige amerikanische Autoren, denen sich auch Yoshioka (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 96/97) angeschlossen hat,. meinen, durch häufige (halbstündliche) Injektionen kleiner Dosen bessere Resultate erzielt zu haben, statt des üblichen Verfahrens in etwa wöchentlichen Abständen allmählich steigende Einspritzungen zu machen. Wir haben die häufigen und kleinen Injektionen, sowie verschiedene andere Verfahren, die gelegentlich vorgeschlagen wurden, ebenfalls geprüft, uns aber nicht überzeugen können, daß man damit bessere Ergebnisse erzielt. Das Wesentliche dabei ist, ob das Tier sich eignet oder nicht. Wir fanden, daß nur etwa 31 Proz. der Kaninchen ein brauchbares Serum gaben. Derselbe Stamm, mit dem man bei einem Tier ein gut agglutinierendes Serum erhält, versagt vielleicht beim nächsten vollkommen, um dann wieder einzuschlagen. Wir haben es schließlich für das Praktischste gefunden, zwei Injektionen in 5—7tägigen Intervallen zu machen, dann das Tier zu prüfen und wenn eine Reaktion eingetreten war, nun noch eine 3. Dosis zu geben und dann das Tier zu töten. Spritzt man häufiger, um den Titer noch höher zu treiben, so beobachteten wir keineswegs selten, daß ein Herabgehen zu beobachten war.

Wie ja bekannt, ist die Titerhöhe bei Pneumokokken im Vergleich zu anderen eine geringe; 1000 ist schon eine Ausnahme, meistens muß man sich mit 100—300 oder noch weniger zufrieden geben. Auch hier treten große Schwankungen auf, je nach dem Stamm und der Reaktionsfähigkeit des Tieres. Die agglutinierende Fähigkeit hielt sich sehr verschieden lange, bei einigen Seren bis zu 2 Jahren, bei anderen etwa 1 Jahr lang oder auch nur einige Monate. Das älteste Serum, welches wir besitzen, stammt vom 9. 12. 22, ist also schon $3^1/_2$ Jahre alt und noch sehr gut brauchbar. Ein mit demselben Stamme im Januar dieses Jahres hergestelltes hatte nach 4 Monaten seine Kraft vollständig eingebüßt. Der ursprüngliche Titer, besonders wenn er etwas höher war, sank meistens schnell, um sich dann einige Monate konstant zu erhalten. Nur durch regelmäßige Kontrolle mit dem homologen Serum alle paar Wochen ließ sich ein Urteil darüber gewinnen. Es empfiehlt sich die Seren etwas ablagern zu lassen, da sie dann weniger Neigung zum Uebergreifen auf andere Stämme zeigen. Die Agglutinin bildende Kraft scheint auch bei längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden erhalten zu bleiben.

Die Agglutination selbst geschah makroskopisch. Von einer frisch abgeschwemmten Aszitesagarplatte wurden 0,25 ccm mit ebensoviel der entsprechenden Serumverdünnung zusammengegeben und dann nach 2, 4,

6 und 24 Std. Aufenthalt im Brutschrank abgelesen. Bei gut agglutinierenden Seren und Stämmen ist nach zwei Stunden meistens schon eine eindeutige Wirkung wahrzunehmen; nach 6 bis 8 Std. scheint die Reaktion abgeschlossen zu sein. Nur selten findet man eine erst nach 24 Std. auftretende Flockung; es handelt sich dann meist um Seren, die in ihrer Wirksamkeit schon stark nachgelassen haben, oder um Mitagglutination verwandter Stämme. Die Agglutination selbst war bei den zur Hauptgruppe gehörigen Stämmen meist eine starke und dichte, so daß pseudomembranöse Niederschläge sich am Boden des Gläschens bildeten. Bei den anderen Gruppen, soweit man von solchen sprechen kann, war sie mehr feinflockig.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind auf den Tabellen 1—3 zusammengestellt, von denen die erste die typischen Pneumonien, die zweite die atypischen und die dritte Pneumokokkenstämme verschiedener Herkunft enthält.

Bei den 134 typischen Pneumonien wurden in 118 Fällen Pneumokokken gefunden gleich 88 Proz. Rechnet man den sogenannten Streptococcus mucosus, der offenbar den Pneumokokken näher verwandt ist als den Streptokokken, noch hinzu, so ergeben sich 132 Fälle oder 91,5 Proz. Das würde im wesentlichen mit großen amerikanischen und englischen Statistiken übereinstimmen, die 90—91 Proz. angeben. Wir dürfen daher wohl annehmen, daß auch bei uns die Verhältnisse ähnlich liegen und rund 90 Proz. aller Pneumonien durch den Pneumokokkus hervorgerufen werden. Die restlichen 10—12 Proz. verteilen sich auf verschiedene andere Bakterien. Wir fanden bei den 134 Fällen 9mal hämolyt. Streptokokken, 5mal Strepto(Pneumo)coccus mucosus, 1mal Bac. Friedländer und 2mal eine Mischinfektion von Staphylokokken und Proteus. Die Gesamtmortalität betrug 20 Proz. Rechnet man die Mucosusfälle und die, bei denen hämolyt. Streptokokken gefunden wurden für sich, so ergab sich bei den ersteren (5 mit 3 †) eine Sterblichkeit von 60 Proz., bei den letzteren (9 mit 3 †) eine solche von 33 Proz. Daß die Erkrankungen, bei denen der Mucosus gefunden wird, ganz besonders schwer zu sein pflegen, ist ja eine Beobachtung, die immer wieder an den verschiedensten Orten gemacht wird.

Beim Durchprüfen der einzelnen Stämme mit den verschiedenen Seren zeigte sich, daß sich eine größere Gruppe ziemlich scharf von den übrigen agglutinatorisch abgrenzen läßt. Es sind dies die Stämme, die schon von Neufeld u. Händel bei ihren ersten dahin gehenden Untersuchungen als sogenannte typische von den atypischen abgetrennt wurden. Sie gehören zu denjenigen, die von den Amerikanern in ihrem Typ I zusammengefaßt werden. Zur Feststellung der Zugehörigkeit zu dieser Gruppe empfiehlt es sich aber nach unseren Erfahrungen, sich niemals auf ein einzelnes, wenn auch gut agglutinierendes Serum, zu verlassen, sondern den fraglichen Stamm mit mehreren Seren der zur Gruppe gehörenden Stämme zu prüfen, da er nicht selten nur mit dem einen oder dem anderen, nicht aber mit allen reagiert. Im übrigen pflegt die Reaktion meist schnell und auffallend grobflockig einzutreten, so daß über den Ausfall kein Zweifel sein konnte. Ein Uebergreifen der Seren auf andere Gruppen und Stämme kommt vor, wie aus der Tafel hervorgeht, auch wenn man die Seren erst etwa 14 Tage liegen läßt, wodurch diese unwillkommene Eigenschaft wenigstens in vielen Fällen verringert, wenn auch nicht stets aufgehoben wird. Durch Absättigen kommt man dann unter Umständen noch zum Ziele, aber auch nicht

Fortlauf. Nr.	Stamm-Nr.	Seren (Gruppe I)														I. Ty	
		A I	85	55	58	66	53	150	138	163	154	77	131	145	A II	37	41
1	25	.	.	.	.	(+)	.	.	((+))	.	.	.	.	.	((+))	((+))	((+)
2	27	.	.	.	.	.	(+)	.	.	((+))	.	.	.	.	(+)	((+))	.
3	30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.
4	37	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	(+)	.	.	+	+
5	40	.	.	.	.		.	.	.	((+))	.	.	.	.	.	+	+
6	41	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	(+)	.	.	.	.	+	+
7	42	.	.	.	.	.	+	.	.	.	+	.	(+)	((+))	.	+	+
8	45	+	+	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
9	46	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
10	48	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
11	49	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
12	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
13	53	+	+	+	+	+	+	(+)	+	.	.	.	.	.	.	.	.
14	55	+	+	+	+	+	+	.	+	+	.	.	.	.	.	.	.
15	56	+	+	+	.	+	+	.	+	((+))	.	.	.	.	.	.	.
16	57	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
17	58	+	+	+	.	+	+	.	+	.		.	.	.	.	.	.
18	59	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
19	62	.	+	+	.	+	.	.	((+))	.	.	.	.	.	.	.	.
20	64	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
21	65	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
22	66	.	.	+	.	+	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.
23	69	?	((+))	.	((+))	.	((+))	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
24	70	.	+	+	+	+	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.
25	71	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
26	72	.	.	+	+	+	+	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.
27	73	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.	((+))	.	.	.	.	.
28	74	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.	((+))	((+))	((+))	((+))	.	.	.
29	75	.	.	.	.	.	.	+	(+)	.	((+))	((+))	.	.	+	.	.
30	76	.	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.	((+))	.	.	.	.	.
31	77	+	+	+	+	+	.	.	+	.	.	((+))	.	.	.	.	.
32	78	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
33	80	.	+	+	+	+	+	+	.	(+)	(+)	+	+	+	.	.	.
34	82	(+)	+	((+))	.	(+)	.	(+)	.	+	+	.	.	.	.	.	.
35	83	.	.	.	.	.	.	(+)	.	(+)	(+)	.	.	((+))	.	.	.
36	84	+	+	+	.	+	+	.	.	.	.	((+))	.	.	.	.	+
37	86	.	.	.	.	.	.	.	.	((+))	.	((+))	.	.	.	.	.
38	87	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
39	88	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
40	94	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
41	95	+	+	+	+	+	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.
42	97	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.	.	.	.	.	.	.
43	98	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
44	99	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
45	100	+	+	+	+	+	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.
46	102		.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
47	103	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
48	104	+	+	+	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
49	105	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
50	106	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
51	107	.	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
52	108	.	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
53	109	.	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Erklärungen:

\+ = deutliche Agglutination.
(+) = schwache „
((+)) = Andeutung von Agglutination.
? = fragliche Agglutination.
—— = Serum ausgegangen oder unbrauchbar geworden.
Sp. = Spontane Agglutination.

monien

Str. mucosus														Klin. Diagnose	Pneuma	Strept. haem.	Strept. mucos.	Misch-Bakt.
A III	88	141	144	109	110	117	139	148	155	143	123	135	236					
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	((+))	?	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	((+))	?	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	((+))	.	|	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	((+))	((+))	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	+	.	.	((+))	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	† Pn.	(+)	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.	.	.	|	† Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Pn.	.	+	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	?	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	?	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	+	.	.	|	Grippe Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Pn.	.	.	→	Fried-länder
.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	† Pn.	+	.	.	
.	.	.	((+))	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	?	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Pn.	+	.	.	.
(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
(+)	.	.	(+)	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	(+)	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Pn (aus Sputum)	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	† Sept. Pn.	.	+	.	.
.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	+	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	(+)	.	.	.	.	((+))	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	† Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	† Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.	.	.	.	.	† Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Pn.	+	.	.	.
.	+	(+)	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	† Krup. Pn.	.	.	+	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	† Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	(+)	.	+	.	.	.	.	((+))	|	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Emp. d. Kniegel.	+	.	.	.
+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	|	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	† Pn.	+	.	.	.

Fortlauf. Nr.	Stamm-Nr.	Seren (Gruppe I)														I. Typis…		
		A I	85	55	58	66	53	150	138	163	154	77	131	145	A II	37	41
54	110	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
55	112	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
56	113	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
57	114	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.
58	115	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
59	116	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
60	117	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
61	118	.	(+)	((+))	((+))	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
62	120	+	.	+	+	+		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
63	121	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
64	122	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
65	124	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	+	.	.
66	125	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
67	126	+	(+)	+	(+)	+		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
68	127	((+))	((+))	+	((+))	+		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
69	128	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
70	129	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.
71	130	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
72	131	((+))	+	(+)	(+)	+		+	+	+	+	((+))	+	((+))	.	.	.
73	135	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
74	137	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
75	138	.	.	.	.	.		.	+	.	.	.	.	.	.	.	.
76	139	.	+	+	((+))	((+))		.	+	.	.	.	.	.	.	.	.
77	144	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
78	145	+	+	((+))	+	+		+	+	+	+	.	+	+	.	.	.
79	146	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
80	149	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
81	150	.	+	+	+	+		+	.	+	+	.	+	+	.	.	.
82	151	.	.	.	.	.		+	.	.	.	.	.	.	.	.	.
83	152	.	+	+	+	+		.	+	+	+	.	+	+	.	.	.
84	153	.	.	.	.	.		.	(+)	+	+	.	.	.	.	.	.
85	154	.	+	+	+	+		+	+	+	+	.	+	+	.	.	.
86	158		.	.	.	.		.		.	.	.	.	.	.	.	.
87	159		.	.	.	.		.		.	.	.	.	.	.	.	.
88	161			.				.		.	.	.	.	.	+	.	.
89	162			+				.		.	.	.	.	.	.	.	.
90	163			+				.		+	+	.	+	+	.	.	.
91	164			.				.		.		.	.	.	.	.	.
92	165			.				.		.		.	.	.	.	.	.
93	166			.				.		.		.	.	.	.	.	.
94	167			.				.		.		.	.	.	.	.	.
95	169			.						.		.	.	.	.	.	.
96	172			.						.		.	.	.	.	.	.
97	174			+						.		.	.	.	.	.	.
98	176			.						.		.	.	.	.	.	.
99	178			.						.		.	.	.	.	.	.
100	179			.						.		.	.	.	.	.	.
101	181			.						.		.	.	.	.	.	.
102	182			.						.		.	.	.	.	.	.
103	184			+						.		.	.	.	.	.	.
104	185			.						.		.	.	.	.	.	.
105	188			.						.		.	.	.	.	.	.
106	190			.						.		.	.	.	.	.	.
107	191			+						.		.	.	.	.	.	.
108	192			.						.		.	.	.	.	.	.
109	193			+						.		.	.	.	.	.	.
110	195			.						.		.	.	.	.	.	.

nonien

Str. mucosus														Klin. Diagnose	Pneuma	Strept. haem.	Strept. mucos.	Misch-Bakt.
A III	88	141	144	109	110	117	139	148	155	143	123	135	236					
.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Krup. Pn.	+	.	.	Staph.-Prot.
+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Pn.	?	.	→	
.	.	.	.	.	+	.	.	.	+	.	.	.	│	† Krup. Pn.	+	.	.	
.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Empyemeiter	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	((+))	.	.	((+))	│	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	+	.	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	?	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	((+))	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	† Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	((+))	│	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	((+))	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	+	.	.	.	.	.	.	.	│	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
+	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	(+)	.	† Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Pn.	.	+	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	+	.	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	.	† Krup. Pn.	.	.	+	.
.	.	.	.	│	.	.	+	.	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	((+))	.	((+))	.	.	│	Pn.	.	+	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│		.	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	† Lob. Pn.	.	+	.	.
.	.	.	.	│	.	.	+	.	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	.	.	+	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	.	.	│	.	.	+	.	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	.
.	.	│	.	│	│	.	.	.	.	.	.	│	│	† Lob. Pn.	.	+	.	.
.	.	│	.	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Lob. Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Grippe Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	.	† Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Krup. Pn.	.	.	+	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Lob. Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Grippe Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.	.	+	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Krup. Pn.	.	.	+	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.	+	+	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	+	.	.	│	│	│	Krup. Pn.	+	+	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Krup. Pn.	.	.	+	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Krup. Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Pleuritis n. Pn.	+	.	.	.
.	.	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Krup. Pn.	+	.	.	.

Fortlauf. Nr.	Stamm-Nr.	Seren (Gruppe I)														I. Typ	
		A I	85	55	58	66	53	150	138	163	154	77	131	145	A II	37	[illegible]
111	196	│	│	.	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.	.	.	.
112	199	│	│	.	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.	.	.	.
113	201	│	│	.	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.	.	.	.
114	205	│	│	.	│	│	│	│	│	.	│	│	.	.	.	.	.
115	206	│	│	(+)	│	│	│	│	│	.	│	│	.	.	.	.	.
116	207	│	│	+	│	│	│	│	│	.	│	│	.	.	.	.	.
117	210	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.
118	211	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.
119	212	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.
120	213	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.
121	215	│	│	+	│	│	│	│	│	│	│	│	?	.	.	.	.
122	216	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.
123	218	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	?	?	.	.	.
124	219	│	│	?	│	│	│	│	│	│	│	│	?	?	+	.	│
125	223	│	│	?	│	│	│	│	│	│	│	│	?	.	.	.	│
126	224	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	│
127	225	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	+	.	│
128	226	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	│
129	228	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	│
130	231	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	│
131	233	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	?	.	.	│
132	235	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	│	.	.	│
133	237	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.
134	248	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.

immer. Es sind anscheinend zwischen einzelnen Stämmen gewisse nähere Verwandtschaften vorhanden auch wenn sie in bezug auf andere Eigenschaften verschiedenen Gruppen angehören.

Die Amerikaner unterscheiden bekanntlich neben ihrem Haupttyp noch einen II., III., IV. Typ, von denen III dem Mucosus angehört, IV den Rest der Stämme umfaßt, die sonst nicht unterzubringen sind.

Die Angaben über das Vorkommen in den einzelnen Ländern schwanken in ziemlich weiten Grenzen. Wir führen nur einige Beispiele an. Während Cole (Stud. fr. The Rock. Inst. Vol. 34, 1920. p. 497) in einer Zusammenstellung über 700 Fälle von „typical lobar pneumonia" für die einzelnen Typen einen Prozentgehalt von Erkrankungen und Todesfällen angibt von 35 Proz. (25 Proz. †) für den Typ I, 30 Proz. (32 Proz. †) für II, 10 Proz. (45 Proz. †) für III und 25 Proz. (16 Proz. †) für IV, berichtet Herzog (Schweiz. med. Wochenschr. 1924. S. 573; Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 79. 1925. S. 97), daß bei 57 Pneumonien Typ I in 15 Fällen = 26,5 Proz., Typ II in 14 = 24,5 Proz., Typ III in 22 = 39 Proz., Typ IV in 6 = 10 Proz. gefunden wurde. Aus Italien berichtet Pontano (Ann. d. Igiene 1922. p. 525; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Ref. Bd. 76. 1924. S. 10), daß von den aus 70 Krankheitsfällen meist aus dem Blute gezüchteten 27 Stämmen dem Typ I 51 Proz., II = 22 Proz., III = 11 Proz. und IV nur 4 Proz. angehörten. Es scheinen also wesentliche örtliche Verschiedenheiten zu bestehen. Das erscheint um so auffallender als die beiden letztgenannten Autoren anscheinend Serum amerikanischer Herkunft benutzt haben, die Art der Herkunft, ob vom Pferde oder

monien

Str. mucosus																			
A III	88	141	144	109	110	117	139	148	155	143	123	135	236		Klin. Diagnose	Pneuma	Strept. haem.	Strept. mucos.	Misch-Bakt.
.	.	|	|	|	|	.	|	.	.	.	|	|	|		Krup. Pn.	+	+	.	.
|	.	|	|	|	|	.	|	.	.	.	|	|	|		Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	.	|	.	.	.	|	|	|		Krup. Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	.	|	.	.	.	|	|	|		Krup. Pn.	+	+	.	.
|	|	|	|	|	|	.	|	.	.	.	|	|	|		Lob. Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	.	.	.	|	|	|		Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	.	.	.	|	|	|	†	Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	.	.	.	|	|	|		Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	.	.	.	|	|	|		Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	.	.	.	|	|	|		Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	.	.	.	|	|	|		Pn. Punktat	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	.	.	.	|	|	|		Lob. Pn.	.	+	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	†	Krup. Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|		Krup. Pn.	+	+		.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|		Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	.		Krup. Pu.	+	+	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	†	Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|		Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	.		Pn.	+	+	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|		Pn.	+	.	.	.
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|		Pn.	+	.	.	Staphyl. .
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|		Pn. pleur. exsud.	+	.	.	
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	.		Br. Pn.	+	.	→	
|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	?		Lob. Pn.	+	.	.	

Kaninchen, dabei also keine Rolle gespielt haben kann. — Bei uns fielen 25 Proz. auf die erste Gruppe mit einer Mortalität von 36 Proz.

Mit einem vom Institut für Infektionskrankheiten gütigst überlassenen Stamme (A. II), der zu dem amerikanischen Typ II gehörte, haben wir Seren hergestellt und damit die sämtlichen Stämme durchgeprüft. Es fanden sich aber unter den 134 typischen Pneumonien nur 5, welche eine deutliche Agglutination zeigten; bei den atypischen und den anderen überhaupt keine (vgl. Tab.).

Dagegen fanden wir bei den kurz hintereinander auftretenden Fällen 37, 40, 41, 42 eine deutlich ausgesprochene agglutinatorische Zusammengehörigkeit, ohne daß sich bei näherer Nachforschung ein Zusammenhang zwischen den einzelnen Erkrankungen hätte feststellen lassen. Es waren dies die Stämme, die auch spektroskopisch (s. o.) durch ihre ungewöhnlich schnelle Methämoglobinbildung auffielen und bei Zusatz von Kal. bichrom. eigentümlichen pathologische Wuchsformen zeigten. Auf der Blutplatte bildeten sie keinen grünlichen Hof und behielten diese Eigenschaft auch bei 4jähr. Fortzüchtung. Später kamen nur noch vereinzelte Stämme hinzu, welche dieser Gruppe zugerechnet werden können.

Der Strepto(Pneumo)coccus mucosus imponiert ja schon durch sein eigenartiges schleimiges Wachstum auf der Aszitesplatte, das er ja doch auf der Blutplatte nicht, oder wenigstens nicht in dem Maße zeigt. Bei längerer Fortzüchtung verloren alle die Fähigkeiten eine Schleimhülle zu bilden bis auf einen (Nr. 141), der sie auch heute noch nach 27 Monaten in der 122. Generation besitzt, wenn auch in

Fortlauf. Nr.	Stamm-Nr.	II. Atypische																					
		Seren (Gruppe I)																		Str. mucosus			
		A I	85	55	58	66	53	150	138	163	154	77	131	145	A II B	37	41	42	83	A III	88	141	144
1	29	.	.	.	.	.	.	.	.		.	.	.	.	((+))	((+))	.	.	.	.	.	.	.
2	50	+	+	+	.	+	.	.	+	((+))	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3	60	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
4	79	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5	81	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
6	123	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
7	132	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
8	133	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
9	134	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
10	141	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.
11	143	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.
12	147	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
13	148	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
14	155	.	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.
15	156		.	.	.	.		.		.	.	.	.	.	.	.	.		+	.	.		.
16	157		.	.	.	.		.		.	.	.	.	.	.	.	.		+	.	.		.
17	160			.				.		.	.	.	.	.	.	.	.		.	.	.		
18	168			.				.		.	.	.	.	.	.	.	.		.	.	.		
19	170			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
20	171			.						.		.	.	.	.		.		.	.	.		
21	173			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
22	175			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
23	177			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
24	180			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
25	183			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
26	186			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
27	187			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
28	189			.						.		.	.	.	.	.	.		.	+	.		
29	194			.						.		.	.	.	.	.	.		.	.	.		
30	197			.						.		.	.	.	.	.	.		.		.		
31	198			.						.		.	.	.	.	.	.		.		.		
32	200			.						.		.	.	.	.	.	.		.		+		
33	202			.						.		.	.	.	.	.	.		.				
34	203			.						.			.	.	.	.	.		.				
35	204			.						.			.	.	.	.	.		.				
36	208			.						.			.	.	.	.	.		.				
37	209			+									.	.	.	.	.		.				
38	214			.									.	.	.	.	.		.				
39	230			.									?	?	.	.			.				
40	234			.									.	.	+	.			.				
41	236			(+)									?		(+)	?	(+)		?				
42	239			.									.		.	.	.		.				
43	241			.									.		.	.	.		.				
44	243			.									.		.	.	.		.				
45	246			.									.		.	.	.		.				
46	249			.									.		.	.	.		.				

abgeschwächtem Maße. Seren mit diesen Stämmen herzustellen gelingt schwer, wenn überhaupt. Die Agglutination ist unsicher und greift nicht nur selten auf andere Stämme über. Die Mucosus-Stämme scheinen nicht einmal untereinander gleich zu sein. Unter 180 Fällen fanden sich 9 = 6,7 Proz.

Von den dann noch verbleibenden zahlreichen Stämmen wurden verschiedene Seren hergestellt. Es zeigte sich jedoch, daß viele von ihnen

Pneumonien

109	110	117	139	148	155	143	123	135	236	Klinische Diagnose	Pneuma	Streptoc. haemol.	Streptoc. mucos.	Misch-Bakt.
((+))	.	.	.	.	.	.	((+))	((+))	?	† Pn.	+	.	.	
.	.	.	+	.	.	+	.	.	│	† Broncho-Pn.	+	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	│	† Br. Pn. mening.	+	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Br.-Pn.	+	.	.	Gr. neg. Stäbchen
.	.	.	.	.	.	.	.	.	│	confl. Br. Pn.	+	.	.	
│	.	.	.	.	.	.	+	.	│	† Pn. n. Pertussis	+	.	.	
│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Gr. Pn.	.	+		
│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	† Gr. Pn. (aus Lunge)	+	.	.	
│	.	.	.	.	.	.	.	(+)	│	† Hypo. Pn. (aus Lunge)	+	+	.	
│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Gr. Pn.	.	.	+	
│	.	.	.	.	.	.	.	.	Sp.	Gr. Pn.	+	.	.	
│	.	.	.	(+)	.	.	.	.	│	Pn.	+	.	.	
│	.	.	.	+	.	.	.	.	.	Pn.	+	.	.	
│	.	.	.	.	+	(+)	.	.	│	Pn.	+	.	.	
│	│	.	.	.	.	.	.	│	│	Pn.		.	+	
│	│	.	.	.	.	.	.	│	│	Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.		+	.	
│	│	.	│	+	.	.	│	│	│	† Br. Pn.	+		.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.	+	.	.	Gr. neg. Stäbchen
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Br. Pu.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Gr. Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Bronchitis	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Gr. Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Br. Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Chron. Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Br. Pu.	.	.	+	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Gr. Pn.	+	+	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Gr. Pn.	.	+	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	Gr. Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Br. Pn.	.	.	+	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	De. Pn.	+	.	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Pn.	.	+	.	
│	│	.	│	.	.	.	│	│	│	† Pn.	+	.	.	
│	│	│	│	.	.	.	│	│	│	Br. Pn.	+	.	.	
│	│	│	│	.	.	.	│	│	│	Hypo. Pu.	+	.	.	
│	│	│	│		.	.	│	│	│	† Gr. Pn.	.	+	.	
│	│	│	│	│	│	│	│	│	† Br. Pn.	+	.	.	
│	│	│	│	│	│	│	│	│	Br. Pn.	(+)	+	.	
│	│	│	│	│	│	│	│	+	Gr. Pn.	+	.	.	
│	│	│	│	│	│	│	│	│	Br. Pn.	(+)	.	.	
│	│	│	│	│	│	│	│	.	Br. Pn.	+	.	.	
│	│	│	│	│	│	│	│	.	† Gr. Pn.	.	+	.	
│	│	│	│	│	│	│	│	.	† Bronchitis	+	.	.	
│	│	│	│	│	│	│	│	?	Bronchitis	+	.	.	

entweder nur mit dem zugehörigen Stamme, oder auch noch mit dem einen oder dem anderen deutlich agglutinierten, oder daß wenigstens mehr oder weniger ausgesprochene Andeutungen vorhanden waren. Es erscheint aber kaum berechtigt, hier von einer Gruppenbildung zu sprechen, dazu sind die Zahlen zu klein. Eine ganze Anzahl von Stämmen scheint eben so wenig gemeinsame Eigenschaften zu habent, daß sie sich nicht zu bestimmten größeren Gruppen zusammenfassen lassen,

Fortlauf. Nr.	Stamm-Nr.	III. Pneumokokken ver																			
		Seren (Gruppe I)																		Str. mu	
		A I	85	55	58	66	53	150	138	163	157	77	131	145	A II B	37	41	42	83	A III	88
1	61	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2	85	.	+	+	+	+	+	.	.	.	.	?	?	?	.	.	.	.	.	.	.
3	90	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.
4	91	.	((+))	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5	92	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	?	.	.	.	.
6	93	.	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
7	101	.	.	?	+	?	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	?	.	+	.	.
8	111	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
9	119	.	(+)	+	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	((+))	.	.	.	.	.	.
10	217	.	.	.	│	│	│	│	│	.	│	│	.	.	.	.	.	.	.	│	│
11	220	│	│	.	│	│	│	│	│	.	│	│	.	.	.	.	.	│	.	│	│
12	221	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.		│	.	│	│
13	222	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.	│	.	│	│
14	227	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.	│	.	│	│
15	229	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.	│	.	│	│
16	232	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	.	.	.	.	│	.	│	│
17	240	│	│	Sp.→	│	│	│	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	.	│	│
18	244	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	.	│	│
19	247	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	.	│	│
20	39	│	│	.	│	│	│	│	│	│	│	│	.	│	.	.	.	│	.	│	│

wenn auch hier und da einer von ihnen eine nähere Verwandtschaft zu einem der andern durch die gemeinsame Agglutination erkennen läßt.

Die mühsamen Versuche, die Pneumokokken in einzelne Gruppen zu zerlegen und deren Eigenschaften kennen zu lerenen hatte ja durchaus ihre Berechtigung, da es nur auf diese Weise möglich schien, therapeutisch durch aktive oder passive Immunisierung die von ihnen verursachte Krankheit zu beeinflussen.

Die bisher erzielten Ergebnisse haben leider den anfangs wohl gehegten Hoffnungen nicht entsprochen. Zwar gelingt es im Mäuseversuch mit Seren der der Gruppe angehörenden Stämme Tiere gegen Infektion mit Pneumokokken derselben oder eines anderen der Gruppe angehörenden Stammes zu schützen. Aber die Ergebnisse waren. wenigstens in unseren Versuchen, doch recht ungleichmäßig. Die Eigenart und die oft schnell wechselnde Virulenz der Stämme, sowie die Beschaffenheit der Seren scheinen dabei eine Rolle zu spielen. Sieht man die nachgerade ziemlich reichhaltig gewordene Literatur auf diese Frage hin durch, so trifft man auf Angaben und Befunde, die nur schwer miteinander in Einklang zu bringen sind. Sehr günstigen Ergebnissen stehen andere erheblich weniger verheißungsvolle gegenüber. Und die Angaben werden noch unsicherer, wenn es sich um Versuche mit gekreuzter passiver Immunität der einzelnen Gruppen und der dazu gehörenden Seren handelt. Wir sind bei unseren dahin gehenden Versuchen zu keinem irgendwie befriedigendem Ergebnis gekommen, so daß sich ein näheres Eingehen auf die Einzelheiten erübrigt.

Versuche am Menschen mit den noch die meisten Aussichten gebenden, zur Gruppe 1 gehörenden Stämmen, werden kaum Aussicht haben, in größerem Umfang angewandt zu werden, wenn es nicht gelingt, die bisher notwendigen Serummengen erheblich zu vermindern. Es wird sich kaum durchführen lassen in jedem Falle mehrere Hundert ccm Immunserum einzuspritzen; ganz abgesehen von der Bedenklichkeit

schiedener Herkunft

cosus												Klinische Diagnose	Pneuma	Streptoc. haemol.	Streptoc. mucos.	Misch-Bakt.
141	144	109	110	117	139	148	155	143	123	135	236					
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Meningitis	.	.	.	.
?	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	† Meningitis	+	.	.	.
.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	† Meningitis	+	.	.	.
+	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Gr Pn. (aus Sputum)	+	.	.	.
.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Meerschw.-Pn.	+	.	.	.
?	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	† Meningitis	.	.	+	.
.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Eiter aus Douglas	+	.	.	.
.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	† Meningitis	+	.	.	.
.	.	│	.	.	.	.	.	.	.	.	│	Pleuro-Punkt.	+	.	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Br. Pn.	+	(+)	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Angina	+	+	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Angina-Bronchitis	(+)	+	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Sepsis mit Pn.	+		.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Asthma-Bronchitis	+	.	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Pleuritis-Bronchitis	+	.	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Asthma-Bronchitis	+	.	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Meerschw.-Pn.	+	.	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Tbc.	+	.	.	Tbc.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Grippe	+	.	.	.
│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	│	Empyem, Eiter u. Pn.	+	.	.	.

welche der Einverleibung so großer Mengen artfremden Serums an sich schon anhaftet.

Aehnlich liegen die Versuche bei der aktiven Immunisierung. Zwar gelingt es durch wiederholte subkutane oder intraperitoneale Einspritzungen mit verschiedenen abgetöteten Stämmen eine ziemlich hohe Immunität gegen den Stamm zu erzielen. Eine praktische Bedeutung werden derartige Einzelversuche des Laboratoriums aber doch erst dann gewinnen können, wenn man es erreicht, eine polyvalente Vakzine in solcher Form und Konzentration herzustellen, daß, wie bei den prophylaktischen Typhus- und Choleraimpfungen, eine ein- oder höchstens zweimalige Einspritzung genügt, um die erwartete Schutzwirkung hervorzurufen. Von den Engländern und Amerikanern sind derartige Versuche gemacht worden, und da berührt es doch sehr eigentümlich, wenn, um nur ein Beispiel anzuführen, derselbe Autor (Malone, Ind. Journ. Med. Res. Vol. 12. 1924. p. 105; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 79. 1925. S. 105) einmal über eine günstige Wirkung berichtet, wenn die Vakzinebehandlung nicht nach dem 3. Krankheitstage angewandt wird und dann 1 Jahr später bei einem größeren Versuch, in dem Truppenteile in Belutschistan zur Hälfte geimpft wurden, angibt, daß unter den gleichen Bedingungen keinerlei Verschiedenheiten an Erkrankungs- und Todesfällen beobachtet werden konnten (Ind. Journ. Med. Res. Vol. 12. 1925. p. 565; Ref, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 80. 1925/26. S. 12).

Durch Verabreichung per os auch in großen Dosen und lange fortgesetzt haben wir ebensowenig wie andere Untersucher Immunität erzielen können.

Die Schwierigkeiten, die sich einer Immunisierung entgegenstellen, scheinen darin ihre Ursache zu haben, daß die einzelnen Stämme doch jeder für sich noch eine zu ausgeprägte Eigenart besitzen, auch wenn, wie die Agglutination zeigt, eine nähere oder entferntere Verwandt-

schaft, oder wie man heute vielfach sagt, Rezeptorengemeinschaft zwischen einzelnen vorhanden ist. Diese bei einigen vorhandene Gemeinsamkeit gewisser Eigenschaften scheint aber doch nicht auszureichen, um einen wirksamen Schutz gegen die Infektion mit den anderen Stämmen zu gewähren. Vielleicht beruht darauf auch die Erscheinung, daß die Pneumonie nicht selten dieselben disponierten Individuen mehrmals befällt, im Gegensatz zum Typhus, wo der Schutz doch häufig fürs Leben vorhält, auch bei Infektionsgelegenheit mit den verschiedensten Stämmen.

Die Bekämpfung der Pneumonie wird wohl in erster Linie darauf ausgehen müssen, die allgemeine Widerstandsfähigkeit des Organismus zu erhöhen und ihn besonders gegen Erkältungen abzuhärten, statt zu versuchen, durch Einspritzungen von Vakzinen und Seren ihm eine Immunität zu verleihen.

Die Frage einer möglichen Immunisierung wird noch verwickelter durch die Beobachtung, daß Pneumokokken und Streptokokken ineinander übergehen und dadurch auch aller Wahrscheinlichkeit nach sich in ihren Eigenschaften verändern können. Daß eine nahe Verwandtschaft zwischen beiden vorhanden sei, wurde schon vor langen Jahren von Kruse und Pansini behauptet (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1891). Hinsichtlich der Pneumokokken kamen sie damals zu dem Ergebnis: „Wirklich distinkte Varietäten aufzustellen ist nicht möglich". Dies Urteil besteht auch heute noch im wesentlichen zu Recht, wenn wir auch durch die damals noch nicht entdeckte Agglutination heute feststellen können, daß wenigstens nach dieser Richtung hin manche Stämme verwandte Eigenschaften besitzen.

Einen Uebergang von hämolytischen Streptokokken in Pneumokokken haben wir mehrfach beobachtet.

Versuch 1. Nr. 1. Nr. 217. 27. 11. 1925. Auf der Originalblutplatte aus der Maus Pneumokokken und vereinzelte hämolyt. Streptokokken. Mit den reingezüchteten hämolyt. Keimen wurden am 1. 12. 1925 zwei Mäuse subkutan am Bauch injiziert und nach 2 u. 4 Std. getötet. Nach 4 Std. fanden sich nur in der Bauchhaut ziemlich reichlich grüne Kolonien und vereinzelte hämolytische, in allen anderen reichlich grünen auch vereinzelt hämolytischen Keimen (Leber 4, Periton. 2, Milz 1. Organen nur hämolytische, ebenso wie nach 2 Std.

Versuch 2. Nr. 224. 16. 12. 1924. Beim Ausstrich aus den Organen der Maus auf der Blutplatte neben grünen auch vereinzelte hämolyt. Keime. Mit einer davon hergestellten Serumbouillon wurden am 21. 12. 1925. vier Mäuse subkutan am Bauche gespritzt und dann nach 1, 3, 5 und 24 Std. getötet. Nach 5 und 24 Std. fanden sich in den Ausstrichen aus der Bauchhaut neben den hämolyt. auch grüne Keime, in den anderen Organen (Peritoneum, Herz, Lungen, Leber, Milz) jedoch nur hämolytische. Auf der Platte von der Serum-Bouillonkultur, die zur Injektion benutzt war, fanden sich ebenfalls einige grüne Keime. Der Versuch wurde am 28. 12. 25 nochmals wiederholt. Es wurden jedoch keine grünen Kolonien diesmal beobachtet, dagegen zeigten die hämolytischen Kolonien ein eigentümlich schleimiges, an mucosus erinnerndes Wachstum, das auch schon bei der ersten aus der Maus stammenden Platte aufgefallen war. Die grünen Keime, welche auf der Platte entstanden waren, zeigten in der Folge ein abweichendes Verhalten, wuchsen schlecht oder gar nicht auf Serum-Bouillon und verloren ihre Pathogenität sehr schnell.

Versuch 3. Nr. 228. 21. 12. 25. In den Ausstrichen aus der Maus neben reichlich grünen auch vereinzelt hämolytischen Keimen (Leber 4, Periton. 2, Milz 1, Herz 1). Aus einem isolierten hämolytischem Keim wurde eine Bouillonkultur angelegt und damit 4 Mäuse subkutan am Bauch injiziert und sie dann nach 1, 3 u. 5 Std. getötet (4. 1. 26). Die Ausstriche aus den Organen auf der Blutplatte waren weder hämolytisch noch grün. Ebenso der Kontrollausstrich aus der zur Impfung benutzten Bouillon. Am 6. 1. 26 wurde von neuem von einer isolierten hämolytischen Kolonie eine Bouillonkultur angelegt, jeden Tag bis zum 11. 1. 26 von ihr weitergeimpft und zugleich eine Kontrollplatte angelegt. Es wuchsen stets hämolytische

Kolonien, nur am 8. 1. 26 fanden sich unter ihnen auch 3 grüne. Am 12. 1. 26 wurden 4 Mäuse subkutan am Bauch damit gespritzt und nach 1, 3, 5 u. 24 Std. getötet. Es fanden sich nach 1 Std. neben hämolytischen Keimen grüne und zwar in der Haut 15, Lunge 3, Periton. 3, Herz 5; nach 3 Std.: Lunge 3, Leber 1, Milz 1, Haut 1, Herz 1; nach 5 Std.: Lunge 4, Milz 3, Haut 2, Leber 1. Herz 1. Nach 24 Std. waren nur hämolytische vorhanden; ebenso zeigte die Kontrollplatte aus der Impfbouillon nur hämolytische.

Versuch 4. Nr. 234. 4. 1. 26. Auf der Originalplatte aus der Maus reichlich hämolytische, vereinzelt grüne Keime. Reinzüchtung aus isoliertem hämolytischem Keim. Fortzüchtung in Serum-Bouillon am 7., 8., 9., 10. 1. Kontrollplatten; hämolytische Keime. Am 11. 1. 26 4 Mäuse subkutan am Bauch geimpft, getötet nach 1, 3, 5 u. 24 Std. Es fanden sich neben hämolytischen Keimen grüne, nach 1 Std.: in der Lunge 1, im Herzblut 1, Haut 6; nach 3 Std.: Herz 5, Leber 4, Periton. 2, Lunge 1; nach 5 Std.: Lunge 3, Periton. 1; nach 24 Std. nur hämolytische. Auf der Kontrollplatte aus der Impfbouillon fand sich 1 grüner Keim.

Wenn man nur darauf achtet und vor allem die Platten genügend dünn ausstreicht, scheint es doch nicht so selten vorzukommen, daß man auf den Originalplatten aus der Maus bereits zweierlei Keime, d. h. neben Pneumokokken auch vereinzelte hämolyt. Streptokokken oder umgekehrt findet. Es wäre ja möglich, daß es sich in diesen Fällen um eine Doppelinfektion handelt. Wenn es aber gelingt aus einem isolierten Keim durch Tierpassage (oder zuweilen auch durch weiteres Fortzüchten auf der Platte) grüne Keime mit den Eigenschaften von Pneumokokken zu erzielen, so ist doch die Annahme wohl zulässig, daß bereits in dem ursprünglichen Wirtsorganismus, von dem die Keime stammen, ein derartiger Uebergang stattfinden kann und in dem vorliegenden Falle eingetreten ist. Das wird wahrscheinlich nicht in allen Fällen stattfinden, sondern von der Eigenart des Wirtsorganismus und der Beschaffenheit des Keimes abhängen. Es handelt sich hier ja auch nur um die Möglichkeit eines Ueberganges, sie braucht deswegen noch nicht in jedem Einzelfalle einzutreten.

Eine Umwandlung der Pneumokokken in hämolyt. Streptokokken wurde in diesen Versuchen nicht beobachtet. Eine solche ist jedoch kürzlich von mehreren Seiten (Morgenroth, Schnitzler, Berger, Zeitschr. f. Immun. Bd. 43. H. 3 und Berger u. Engelmann, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 32. S, 1317) eingehend beschrieben worden, so daß darauf verwiesen werden kann. An der Möglichkeit eines Ueberganges kann daher wohl nicht mehr gezweifelt werden.

Zusammenfassung:

Pneumokokken (sowie auch Streptokokken) konnten auf 10 Proz. Hammelblutschrägagar über $2^1/_2$ Jahre am Leben erhalten werden.

Morphologisch trat auch bei jahrelanger Fortzüchtung keine wesentliche Veränderung ein; niemals wurde das Auftreten von Stäbchenformen oder dergleichen beobachtet. Durch Zusatz von Chemikalien (Kal. bichrom.) gelang es, eigenartige stäbchenförmige Wachstumformen bei vereinzelten Stämmen zu erzielen, die aber nicht erblich sind und als pathologische Gebilde angesprochen werden müssen.

Durch die Agglutination ließen sich verwandtschaftliche Beziehungen zwischen verschiedenen Stämmen nachweisen. Eine Trennung in 4 Gruppen oder Typen, wie sie von amerikanischen Autoren angegeben wird, ließ sich jedoch aus den Agglutinationsergebnissen nur sehr summarisch ablesen, da überall Uebergänge vorhanden zu sein scheinen.

Höchstens die zur Gruppe 1 gehörenden Stämme könnten als ein häufiger vorkommender, enger zusammengehörender Typus angesprochen werden.

Die verwandten Eigenschaften der einzelnen Stämme scheinen von den individuell besonderen überwogen zu werden, so daß das Trennende mehr Gewicht hat als das Gemeinsame. Damit hängt es vielleicht zusammen, daß die Versuche mit aktiver und passiver Immunisierung bisher noch wenig befriedigend ausgefallen sind.

Pneumokokken und Streptokokken können ineinander übergehen.

Zur Kenntnis der Streptokokken.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg Stellv. Dir.: Prof. Dr. E. G. Dresel).]

II. Mitteilung.

Von Dr. **Erich Wirth.**

9. Virulenzbestimmung, Virulenzänderung und experimentelle Vergrünung hämolysierender Streptokokken.

Auf die Beziehungen zwischen Virulenzverlust und grünem Wachstum auf der Blutagarplatte bei hämolysierenden Streptokokken haben Kuczynski und Wolff (73), Hintze und Kühne (74), Morgenroth und Schnitzer (75) vor allem aufmerksam gemacht. Es lag nahe, diese experimentell vergrünten, avirulenten, „irreparabel geschädigten" Pyogenes-Streptokokken mit dem echten Streptococcus viridans (Schottmüller) zu identifizieren (Kuczynski, Schnitzer und Munter (76), Hubert (77)). Demgegenüber hält Schottmüller (78) an der grundsätzlichen, kulturellen und biologischen Verschiedenheit dieser beiden Streptokokkenarten fest. Den Ausdruck „Vergrünung" möchte er lieber durch Hämolyseverlust ersetzt wissen. Bakterizidieversuche Schottmüllers und Barfurths (79) führten zu dem Ergebnis, daß bei Streptokokken große Vermehrungsgeschwindigkeit im frischen, defibrinierten Menschenblut parallel geht mit hoher Virulenz im Mäuseversuch, und daß der Strept. viridans regelmäßig innerhalb von 24 Std. im Menschenblut abgetötet wurde.

Schottmüller glaubt daher, im Bakterizidieversuch ein sicheres Differenzierungsmittel für hämolys. und Viridans-Streptokokken gefunden zu haben. Aber die 15 experimentell vergrünten hämolysierenden Streptokokkenstämme Huberts (77) verhielten sich im Bakteriezidieversuch wie die Viridans-Streptokokken, d. h. sie wurden in 24 Std. abgetötet.

Wir selbst versuchten an 15 hämolysierenden Streptokokkenstämmen vom Typus pyogenes a (vgl. Abschnitt 8), die wir monatelang auf Blutagar fortzüchteten, durch wiederholte Prüfungen im Bakterizidie- und Mäuseversuch folgende Fragen zu beantworten:

1) Ist die mehr oder weniger große Bakterizidie des gesunden Menschenblutes hämolysierenden Streptokokken gegenüber ein Gradmesser für deren Virulenz?

2) Welche Bedingungen führen zum Virulenzverlust oder zur Virulenzsteigerung?

3) Ist der experimentell vergrünte Streptococcus pyogenes identisch mit dem Streptococcus viridans (Schottmüller).

1. Vermehrungsgeschwindigkeit hämolysierender Streptokokken im gesunden Menschenblut als Gradmesser ihrer Virulenz.

Zur Bestimmung der Vermehrungsgeschwindigkeit hämolysierender Streptokokken im gesunden Menschenblut bedienten wir uns in Anlehnung an die Technik Schottmüllers (79) und Philipps (80) des folgenden Verfahrens, das wir für die Differentialdiagnose der Streptokokken bereits an anderer Stelle beschrieben haben (vgl. Abschnitt 7), und das hier noch einmal kurz angeführt werden soll: 1 Nadelspitze 24stünd. Blutagarkultur wird in 10 ccm Bouillon verteilt und davon 1 Oese (mit erfahrungsgemäß zirka 200 Keimen) mit 2 ccm Zitrat-Blut (14 ccm Blut: 6 ccm 3proz. Natr. Zitratlösung; zur Differenzierung nahmen wir defibr. Blut!) gemischt. Mit den einzuimpfenden Keimen nicht die trockene Glaswand des Versuchsröhrchens berühren! 1 ccm der Blutbakterienmischung wird sofort, der restliche ccm nach 4 Std. Brutschrankaufenthalt (36°) mit Agar zur Platte verarbeitet. Der Quotient der auf beiden Platten nach 48 Std. gewachsenen Kolonienzahlen (=Vermehrungsfaktor) gibt uns darüber Auskunft, um das wievielfache sich die Keime innerhalb von 4 Std. vermehrt oder vermindert haben. Bakterizidieversuche mit unter 50 Keimen auf der Platte 1 dürfen wegen ihrer hohen Fehlergrenze nicht verwertet werden.

Den so erhaltenen Vermehrungsfaktor setzten wir in Beziehung zum Ausfall des mit dergleichen Kultur und zur gleichen Zeit angestellten Mäuseversuches. Es wurden jeweils 2 Mäuse mit einer Oese Kultur subkutan über der Schwanzwurzel geimpft (Kleiner Schnitt mit scharfer, steriler Schere ohne Quetschung des Gewebes!). Die Ergebnisse dieser vergleichenden Prüfungen lassen sich den folgenden 3 Beispielen leicht entnehmen:

Beispiel 1.

R3 = Strept. pyogenes, gezüchtet am 8. 10. 25 aus einem Mandelabstrich bei Scharlachangina.

Datum der Prüfung	Vermehrungsfaktor im Bakterizidieversuch	Mäuseversuch 1	Mäuseversuch 2	Durchschnittlicher Exitus nach ? Tagen
9. 10. 25	15,6	+ 10. 10.	+ 11. 10.	1—2 Tage
22. 10. 25	4,7	+ 24. 10.	+ 27. 10.	3—4 „
4. 1. 26	1,3	+ 15. 1.	+ 9. 1.	8 „
20. 1. 26	0,73	—	—	—

Beispiel 2.

16 = Strept. pyogenes, gezüchtet am 19. 1. 26 aus einem Mandelabstrich bei Scharlachangina.

Datum der Prüfung	Vermehrungsfaktor im Bakterizidieversuch	Mäuseversuch 1	Mäuseversuch 2	Durchschnittlicher Exitus nach ? Tagen
20. 1. 26	6,5	+ 23. 1.	+ 22. 1.	1—2 Tage
23. 1. 26	0,75	—	—	—
30. 1. 26	1,2	—	+ 12. 2.	— bzw. 12 Tage

Beispiel 3.

A = Strept. pyogenes, gezüchtet am 30. 3. 25 aus Liquor bei Meningitis.

Tag der Prüfung	Vermehrungs-faktor	Mäuseversuch	
		1	2
30. 3. 25	14,3	+ 2., 4.	+ 3. 4.
5. 6. 25	0,1	—	—
10. 6. 25	1,0	.	.
13. 6. 25	1,5	—	—
15. 6. 25	1,7	—	—
3. 7. 25	0,7	—	—
6. 7. 25	0,3	—	—
22. 10. 25	1,3	—	+ 30. 10. Gewebsschädigung?
30. 12. 25	0,35	—	—
10. 1. 26	0,1	—	—

Wir müssen es uns versagen, hier die ausführlichen Versuchsberichte unserer systematischen Virulenzprüfungen an 12 weiteren Stämmen und gelegentlicher Stichproben an 35 anderen hämolysierenden Streptokokkenstämmen abzudrucken; im Prinzip hatten sie alle die gleichen Ergebnisse, die sich in folgenden Sätzen zusammenfassen lassen:

1) Aus akuten Prozessen stammende Pyogenes-Streptokokken sind in den ersten Generationen stark virulent für weiße Mäuse und vermehren sich im frischen Zitrat-Menschenblut innerhalb von 4 Std. auf das 5—50fache.

2) Bei der Fortzüchtung auf Blutagarplatten sinkt die Virulenz für weiße Mäuse gleichzeitig mit der Vermehrungsgeschwindigkeit im Menschenblut. Der Virulenzverlust tritt bei einigen Stämmen schon nach wenigen Tagen (Beispiel 3), bei anderen erst nach wochen- bis monatelanger Fortzüchtung ein. Alle von uns beobachteten Pyogenes-Stämme wurden schließlich avirulent und vermehrten sich dann nicht mehr über das 4fache im Bakterizidieversuch. Auch unsere Scharlachstreptokokken verloren bei der Fortzüchtung ihre Virulenz (die einzelnen Stämme allerdings nach sehr verschiedener Zeit). Gegen die Immunisierung mit lange fortgezüchteten Stämmen bei der Herstellung von Scharlachimmunserum ergeben sich daher starke Bedenken.

3) Der aus dem Bakterizidieversuch mit gesundem Zitrat-Menschenblut gewonnene Vermehrungsfaktor erlaubt daher eine Prognose der Virulenz für die weiße Maus. Er ist ein Gradmesser der Virulenz.

2. Virulenzverlust und Virulenzsteigerung hämolysierender Streptokokken.

Nachdem wir im Schottmüllerschen Bakterizidieversuch eine einfache Methode der Virulenzprüfung hämolysierender Streptokokken kennen gelernt hatten, die den Tierversuch weitgehend ersetzt, versuchten wir unter der Kontrolle des Bakterizidieversuches die Bedingungen ausfindig zu machen, welche zum Virulenzverlust oder zur Virulenzsteigerung führen.

A. Virulenzverlust.

1) Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden. Daß der menschenpathogene Streptokokkus seine Virulenz für Menschen bei künstlicher Fortzüchtung oft schon nach kurzer Zeit verliert, konnte

Petruschky (81) nachweisen. Daß dasselbe auch für die Mäuse-Virulenz gilt, geht aus den oben erwähnten eigenen Versuchen hervor.

2) Schädigung durch Desinfektionsmittel, nicht zusagende Nährböden, Säurebildung alter Kulturen. Fr. Meyer (82. 83) berichtet, daß hochvirulente Streptokokken, die man auf Blut mit Eukupin- oder Rivanolzusatz züchtet oder auf Blut von Patienten, denen Eukupin injiziert worden ist, dadurch in ihrer Virulenz abgeschwächt werden und gleichzeitig das hämolysierende Wachstum verlieren. Das Gleiche beschreibt Morgenroth (84). In eigenen Versuchen konnten wir durch Zusatz einer höheren Fettsäure zum Blut einen Virulenzverlust und anhämolytisches Wachstum herbeiführen: Wir ließen die Pyogenes-Stämme A, D, Y, G in Strichkultur wachsen auf Hammelblutagarplatten mit und ohne Fettsäurezusatz. Mit den 24stünd. Kulturen beider Platten stellten wir vergleichende Bakterizidieversuche an. Wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, ist der Vermehrungsfaktor der Platte mit Fettsäurezusatz durchweg niedriger, und bei dem Stamm Y (Typus pyogenes c, vgl. Abschnitt 8) zeigten die Kolonien auf den Platten des Bakterizidieversuchs eine grünliche Farbe ohne Hofbildung:

Strept.-Stamm	Kultur von Platte ohne Fettsäure Bakterizidie-Vers.		Kultur von Platte mit Fettsäure Bakterizidie-Vers.	
	Verm.-F.	Kolonien	Verm.-F.	Kolonien
A (Pyog. a)	4,8	Hämolyse	0,8	Hämolyse
D (Pyog. a)	0,7	„	0,6	„
G (Pyog. a)	12,7	„	1,0	„
Y (Pyog. c)	2,5	„	0,36	Grün

Auf nicht zusagenden Nährböden, wie Agar ohne Blut-, Serum- oder Asziteszusatz geht bei der Fortzüchtung die Virulenz im allgemeinen schneller verloren als bei Fortzüchtung auf optimalen Nährböden. Das zeigte sich uns bei 4 Streptokokkenstämmen mit anfangs hoher Virulenz, die wir gleichzeitig auf Agar und auf Blutagar fortzüchteten.

Auch in Kulturen, die älter sind als 24 Std., erleiden die Keime eine Schädigung, durch die ihre Vermehrungsfähigkeit im Menschenblut herabgesetzt wird. Vermutlich erfolgt hier die Schädigung durch eigene Stoffwechselprodukte, in erster Linie wohl durch Säurebildung; denn in Nährböden mit Kohlehydratzusatz, in denen die Säurebildung am stärksten ist, sind auch die Keime am kurzlebigsten. Diese absterbenden Keime älterer Kulturen sowie auch die durch Desinfektionsmittel geschädigten können aber im Gegensatz zu den durch lange Fortzüchtung avirulent gemachten ihre Virulenz auf optimalen Nährböden wiedergewinnen. (Ob es überhaupt zweckmäßig ist, den Begriff „Virulenz“ für geschädigte Keime anzuwenden, soll später noch erörtert werden.)

3) Schädigung durch intraperitoneale Injektion bei Mäusen. Kuczynski und Wolff, Hintze und Kühne, Morgenroth und seine Mitarbeiter (l. c.) zeigten, daß in den ersten Stunden nach intraperitonealer Injektion bei Mäusen die injizierten

Keime einen Virulenzverlust erleiden, der sich u. a. in grünem Wachstum auf der Blutplatte äußert. Wir selbst konnten an Nachprüfungen mit 4 virulenten Pyogenes-Stämmen die Richtigkeit dieser Befunde bestätigen. Der Virulenzverlust betrifft die einzelnen Keime in sehr verschiedenem Grade, und ist auch durch den Bakterizidieversuch nachweisbar. Er erwies sich bei einem Teil der abgeimpften Kolonien als reversibel.

B. Virulenzerhaltung.

Für die Erhaltung der Virulenz hämol. Streptokokken kommen vor allem 3 Verfahren in Betracht, die sich auch uns bewährt haben:

1) Das Antrocknen von Kulturen oder infizierten Organen an Seidenfäden und Aufbewahren im Exsikkator (Neufeld 85.). — 2) Das Aufbewahren im Ungermann-Serum (Ungermann 86, Pulvermacher 87). — 3) Die Fortzüchtung durch Tierpassage.

C. Virulenzsteigerung.

Die Virulenz, d. h. die Fähigkeit, sich im lebenden Gewebe vermehren zu können, ist nicht gleichbedeutend mit üppigem Wachstum auf den Nährböden oder mit Hämolyse auf der Blutplatte. Unsere avirulenten Laboratoriumsstämme wuchsen alle mit großem hämolytischen Hof und sehr üppig auf Blutagar. Sie hatten aber nicht die Fähigkeit, sich in frisch entnommenem Zitrat-Menschenblut in 4 Std. über das 4fache zu vermehren wie virulente Stämme.

1) **Läßt sich die Virulenz durch häufiges Ueberimpfen auf optimale Nährböden steigern?**

Um diese Frage zu entscheiden, prüften wir die Virulenz mit verschieden alten und in verschiedenem Intervall fortgezüchteten Kulturen desselben Streptokokkenstammes:

Geprüft am gleichen Tag	Verm.-Fakt.	Kolon. auf Blutagar
24st. Kultur auf Blutagar, in 24st. Intervall fortgez.	4,3	Hämolyse
3 Tage alte Kultur auf Blutagar	0,4	z. T. grün (anhämol).
7 Tage alte Kultur auf Blutagar	0,0 Abtötung	grün! (anhämol.)
9 Tage alte Kultur auf Aszitesagar	0,3	Hämolyse
Derselbe Stamm 6 Monate später geprüft	Verm.-Fakt.	Kolon. auf Blutagar
24st. Kultur auf Blutagar, in den letzten Tagen alle 24 St. überimpft	0,4	Hämolyse
24st. Kultur auf Blutagar, in den letzten Tagen 3mal täglich überimpft	1.3	dgl.

Aehnliche Ergebnisse zeitigte die gleiche Versuchsanordnung bei 4 weiteren avirulenten Laboratoriumsstämmen; sie lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen: 1) Absterbende Keime alter Kulturen werden im Bakterizidieversuch abgetötet und wachsen auf Blutagar ohne Hämolyse. Zu Virulenzprüfungen darf man daher nur 24stünd. Kulturen verwenden. 2) Eine nennenswerte **Virulenzsteigerung avirulenter Laboratoriumsstämme durch häufiges Ueberimpfen auf optimale Nährböden ist nicht möglich.**

Küstner (88) will die Virulenz hämol. Streptokokken durch Aufenthalt in faulender Plazenta gesteigert haben. Bumm (89) kann das nicht bestätigen. Eigene Versuche in dieser Richtung machten wir nicht.

2) Virulenzsteigerung durch Tierpassage. Einimpfen in experimentell geschädigtes Gewebe. Durch Einimpfen in gesunde Subkutangewebe der Maus (glatte sterile Schnittwunde über der Schwanzwurzel, keine Gewebsquetschung!) läßt sich mit einer Oese 24 Std. Blutagarkultur bei avirulenten Laboratoriumsstämmen (Verm. Fakt. nicht über 3,0) keine Infektion hervorrufen. Gotschlich (90) empfiehlt zur Virulenzprüfung solcher Eiterkokken Injektion in das Kniegelenk des Kaninchens oder intravenöse Injektion nach Anlegen einer unblutigen Extremitätenfraktur. Es bildet sich dann an der Frakturstelle als an einem Ort verminderten Widerstands ein Eiterherd. Demnach wäre die Gewebsschädigung das Entscheidende für die Vermehrungsfähigkeit solcher Keime, die für gesundes Gewebe nicht genug Stoßkraft besitzen, und im Kampf mit den Abwehrkräften, die aber zu schwach sind um allen Keimen Halt zu gebieten, fände eine Auslese weniger anpassungsfähiger Keime statt.

In der Tat ist uns, zwar nicht in jedem Fall mit Sicherheit, aber doch bei 5 von 7 avirulenten Laboratoriumsstämmen, durch Einimpfen in experimentell geschädigtes Gewebe eine Virulenzsteigerung gelungen. Die Gewebsschädigung bestand dabei in einer Verbrennung des subkutanen Gewebes mit dem heißen Platinspatel. Jeweils impften wir 2 Mäuse mit und je 2 zur Kontrolle ohne Verbrennung. Aus unseren Versuchsberichten folgende zwei Beispiele:

Beispiel 1.

G 3 Strept. pyogenes aus Eiter gezüchtet am 30. 9. 25.

	Kontrollmäuse		Mit Verbrennung	
	I	II	I	II
30. 12. V.-F. 0,35	—	—	+ 8. 1. V.-F. 4,3	+ 4. 1. V.-F. 9,2
6. 1. V.-F. 9,2	+ 7. 1. V.-F. 10,3	+ 8. 1. V.-F. 7,3	+ 7. 1. V.-F. 15,3	+ 7. 1. V.-F. 8,9

Beispiel 2.

A = Strept. pyogenes aus Liquor gezüchtet am 30. 3. 25.

	Kontrollmäuse		Mit Verbrennung	
	I	II	I	II
30. 12. V.-F. 0,7	—	—	+ 8. 1. V.-F. 1,3	+ 15. 1. V.-F. 2,0
10. 1. V.-F. 1,3	+ 20. I. V.-F. 2,3	—		
22. 1. V.-F. 2,3	+ 25. 1. V.-F. 5,2.	+ 26. 1. V.-F. 2,9		

Anmerk.: V.-F. = Vermehrungsfaktor im Bakterizidieversuch.

Wir bestimmten also jeweils den Vermehrungsfaktor der aus dem Herzblut gezüchteten Keime und impften diese dann weiter in gesundes Gewebe, um nach erfolgtem Exitus wiederum den Vermehrungsfaktor der aus dem Herzblut gezüchteten Keime zu bestimmen. Dabei ver-

hielten sich die einzelnen Stämme nicht gleichwertig. Einige erreichten sehr schnell, andere nur langsam und wiedere andere überhaupt kein Ansteigen der Virulenz. In erster Linie machen die lange fortgezüchteten Stämme Schwierigkeiten, während ehemals hochvirulente, noch nicht allzulange in den avirulenten Zustand übergegangene Stämme in der Regel leicht ihre Virulenz wiedergewinnen. Immerhin glauben wir in der Tatsache, daß bei der Maus ein Virulentwerden avirulenter Laboratoriumsstämme im geschädigten Gewebe erzielt werden kann, und zwar von Laboratoriumsstämmen, die auf keine andere Weise zur Vermehrungsfähigkeit in gesundem Gewebe gebracht werden können, eine Bestätigung von Schottmüllers Ansichten über das Wesen der Streptokokkeninfektion zu sehen. Denn Schottmüller hat von jeher betont (91), daß der Sitz der Infektion und das Ausmaß der lokalen Gewebsschädigung das Bestimmende sei für den Verlauf einer Streptokokkenerkrankung.

3. Die experimentelle Vergrünung hämolysierender Streptokokken.

In der Literatur, die sich mit der Arteinteilung der Streptokokken beschäftigt, spielt die experimentelle Vergrünung hämolysierender Streptokokken eine große Rolle. Denn dadurch, daß Kuczynski und Wolff, Morgenroth, Schnitzer, Hubert (l. c.) und andere diese „experimentell anhämolytisch gemachten" (Schottmüller) Streptokokken mit dem echten Strept. viridans (Schottmüller) identifizieren, wird eine große Unsicherheit in die Arteinteilung getragen.

Unsere 15, anfangs virulenten, hämolysierenden Strept.-Stämme die wir 3 Monate lang auf Blutagar fortzüchteten, sollten uns folgende Fragen beantworten:

1) Können alle Pyogenes-Stämme in den grünen Zustand übergeführt werden? 2) Ist mit der experimentellen Vergrünung ein Virulenzsturz verbunden, und sind diese beiden Zustandsänderungen reversibel? 3) Ist der experimentell vergrünte Strept. pyogenes identisch mit dem Strept. viridans?

1) Wir konnten alle 15 Stämme zu anhämolytischem Wachstum mit leichter Grünfärbung des Blutagars bringen. Erreicht werden konnte das jeweils auf 2 Wegen: a) Durch Schädigung der Keime vor dem Ueberimpfen auf Blutagar (Desinfektionsmittel, alte, absterbende Kulturen, Kulturen auf Nährböden mit Fettsäurezusatz, intraperitoneale Injektionen bei Mäusen). b) Durch Abimpfen ungeschädigter Keime auf Blutagar, dem keimschädigende Mittel zugesetzt wurden (Sublimat, Fettsäure).

Daraus geht hervor, daß die Vermehrungshemmung das Entscheidende ist für den Hämolyseverlust. Auch bei vermehrungstüchtigen hämol. Streptokokken kann man vor der eigentlichen Hofbildung oft eine grünliche Verfärbung des Blutagars feststellen. Dieses grüne Vorstadium wird nicht überschritten, wenn das Wachstum unterbrochen oder gehemmt wird.

2) Entsprechend ihrer geringen Vermehrungsfähigkeit auf optimalem Nährboden (denn Blutagar kann für Pyogenes-Streptokokken wohl als optimaler Nährboden bezeichnet werden), zeigen die experimentell vergrünten Streptokokken im Mäuse-Versuch Avirulenz und im Bakterizidie-Versuch Keimverminderung. Ihr Vermehrungsfaktor bewegt sich

zwischen 0 und 0,5; und auch nach 24stündigem Aufenthalt im Menschenblut können sie, wie der Strept. viridans, vollkommen abgetötet sein. — Je nachdem, ob die experimentell vergrünten Streptokokken nach 3maligem Ueberimpfen auf Blutagarplatten die Fähigkeit zum hämol. Wachstum wieder annehmen oder nicht, unterscheiden Kuczynski und Wolff (l. c.) „reparabel geschädigte hämolys. Streptokokken" (= „Pseudoviridans") und „irreparabel geschädigte hämol. Strept." (= „Viridans"). Uns selbst ist durch intraperitoneale Injektion bei Mäusen oder andere Verfahren die Erzeugung von Keimen mit dauerndem Hämolyseverlust nicht geglückt. In der Regel trat schon in der 2.—3 gelegentlich aber auch in der 5.—8. Blutagarkultur die Hämolyse wieder auf. Ebenso berichtet Schottmüller, daß fast stets bei Fortzüchtung seiner anhämolytisch gemachten Streptokokken die Hämolyse wiederkehrte (92). Wenn Morgenroth und seine Mitarbeiter jeden Strept. Stamm zum dauernden anhämol. Wachstum bringen, müssen wir gegen ihre Fortzüchtungsmethoden einige Einwände erheben (93). Sie überimpfen ihre Kulturen jeden 2. Tag in wechselndem Turnus auf 8proz. Blutagar und in 10proz. Serumbouillon. Nach unseren Erfahrungen ist die 10proz. Serumbouillon ein Nährboden, der bei nachfolgender Aussaat auf Blutagar auch ungeschädigte hämolys. Streptokokken (vor allem avirulente) oft grünlich und ohne Hämolyse wachsen läßt. Wir selbst konnten fast alle unsere experimentell anhämolytisch gemachten Keime wochenlang anhämolytisch erhalten, wenn wir sie in wechselndem Turnus Blutagar-Serumbouillon fortzüchteten. Aenderten wir dann aber das Fortzüchtungsverfahren dahin, daß wir alle 24 Std. auf Blutagar weiterimpften, so kehrte bei allen Stämmen nach 2—8 Tagen die Hämolyse wieder.

Ebenso wie der Hämolyseverlust erwies sich auch der Virulenzverlust bei der Mehrzahl der geprüften geschädigten Keime als reversibel. Von Virulenzverlust sollte man bei geschädigten Keimen eigentlich nicht sprechen; es erscheint uns richtiger, den Begriff Virulenz — der die Fähigkeit eines bestimmten Bakterienstammes bezeichnet, sich im lebenden Gewebe einer bestimmten Tierart zu vermehren — nur auf junge, lebensfrische Keime zu beziehen. Natürlich sind bereits abgestorbene, alternde, oder durch Desinfektionsmittel geschädigte Keime nicht vermehrungstüchtig, weder auf optimalen künstlichen Nährböden noch im Tierkörper. Im wahren Sinne des Wortes avirulente Streptokokkenstämme zeigen üppiges Wachstum auf optimalen Nährböden, aber im lebenden Gewebe können sie sich nicht vermehren. Ganz anders aber verhalten sich virulente Streptokokkenstämme, die durch äußere Schädigungen vorübergehend in ihrer Vermehrungsfähigkeit beeinträchtigt sind. Bei diesen werden latent auf die nächsten Generationen die Eigenschaften übertragen, die unter günstigen Wachstumsbedingungen sofort wieder zum „Virulenzrückschlag" führen. — Erwähnt sei noch, daß auch Huberts (l. c.) experimentell zum anhämol. Wachstum gebrachte Strept.-Stämme nach 2—3 Blutagarpassagen in die virulente, hämolytische Ausgangsform zurückschlugen.

3) Daß die experimentell vergrünten Streptokokken irgendwelche Beziehungen hätten zum echten Strept. viridans (Schottmüller), ist nach dem beschriebenen Verhalten von vorne herein sehr unwahrscheinlich. Zur Gewißheit wird aber die grund-

sätzliche Artverschiedenheit dieser beiden Keimarten dadurch, daß wir ihr Verhalten auf den früher genannten Differentialnährböden miteinander vergleichen (Abschnitt 7 u. 8): Gerade die typischen Merkmale, die wir bei keinem unserer Viridansstämme vermißten, wie Gerinnung und Reduktion der Neutralrotmilch, dunkelgrüne Verfärbung der Malachitgrünmilch, keine Hämolyse in Blutbouillon, gerade diese Merkmale fehlten den experimentell vergrünten Strept.-Stämmen. Sie behielten — soweit sie überhaupt wachstumsfähig waren — auf den Differentialnährböden das gleiche Verhalten wie ihr Ausgangsstamm und sind daher unter keinen Umständen mit dem Strept. viridans (Schottmüller) identisch.

Zusammengefaßt liefern unsere Studien über die Virulenzbestimmung, Virulenzänderung und experimentelle Vergrünung hämolysierender Streptokokken eine Bestätigung der von Schottmüller vertretenen Anschauungen.

Im Einzelnen konnten wir folgendes nachweisen:

1) **Zur Bestimmung der Virulenz hämol. Streptokokken ist die Vermehrungsgeschwindigkeit im Schottmüllerschen Bakterizidie-Versuch ein Gradmesser.** Das Ergebnis der Virulenzprüfung im Bakterizidie-Versuch stimmt in der Regel mit dem der Virulenzprüfung an der weißen Maus überein. — 2) **Die Virulenz hämol. Strept. läßt sich experimentell vermindern und steigern.** Die Virulenzsteigerung avirulenter Laboratoriumsstämme gelingt oft durch Einimpfen in lokal geschädigtes Gewebe. — 3) **Die experimentell vergrünten hämol. Streptokokken sind nicht identisch mit dem Strept. viridans (Schottmüller).** —

10. Variations- und Umzüchtungsversuche mit Streptokokken.

Diejenigen Autoren, welche die verschiedenen Streptokokkenarten als Varianten einer einheitlichen Art betrachten, stützen ihre Ansicht vor allem auf die Variabilität dreier Merkmale: 1) auf die Variabilität der Kokkenform, 2) auf die Variabilität der Wachstumsart auf Blutagar und 3) auf die Variabilität der Virulenz. Wir haben zu diesen 3 Punkten bereits ausführlich Stellung genommen, indem wir nachweisen konnten, daß 1) die Kokkenform bei allen Strept.-Arten mit der Ueberimpfung auf neue Nährböden wechselt, und daher für keine Streptokokkenart ein konstantes Merkmal ist, daß 2) die experimentell vergrünten hämolys. Streptokokken nicht mit dem Strept. viridans identisch sind und daß 3) der Virulenzwechsel ein typisches Merkmal des Strept. pyogenes ist. Die Variabilität dieser 3 Merkmale kann daher nicht zum Beweis für die Arteinheit der Streptokokken angeführt werden.

Abgesehen von der Variabilität der genannten 3 Merkmale, soll im folgenden die Frage erörtert werden, wie sich die einzelnen Streptokokkenarten bei wiederholter Prüfung zu den übrigen Differen-

zierungsmethoden (Abschn. 7) verhalten und ob die übrigen Merkmale bei längerer Fortzüchtung, bei Plattenaussaat von Einzelkeimen und bei intraperitonealer Injektion bei Mäusen ebenfalls variabel sind?

1. Fortzüchtung homogener Kultur auf Blutagar.

Wie wir früher (Abschnitt 2) näher beschrieben haben, züchteten wir 103 Streptokokkenstämme aller Arten 3—10 Monate lang auf Blutagar fort, wobei sich die Wachstumsart dieser Stämme auf Blutagar als konstant erwies. Dieselben fortgezüchteten Stämme prüften wir in 4—6wöchentlichem Abstand auf allen Differentialnährböden und zwar jeden einzelnen Stamm im ganzen 3—4mal, einzelne Stämme auch bis zu 8mal. Dabei ergaben sich bei keinem Strept.-Stamm Abweichungen vom anfangs festgestellten Verhalten und insbesondere wurden die typischen Artmerkmale konstant beibehalten.

2. Plattenaussaat von Einzelkeimen.

Da die homogene Kultur auf optimalen Nährböden wenig geeignet ist zur Erzielung von Variationen (Gotschlich 94), prüften wir Einzelkolonien aller 8 Arten nach 3maliger Plattenaussaat von Einzelkeimen. Auch hierbei erwies sich kein Merkmal als variabel.

3. Intraperitoneale Injektion bei Mäusen.

Die besten Aussichten für die Erzeugung von Variationen bietet der Tierversuch, der eine Auslese weniger, anpassungsfähiger Keime begünstigt. Ueber die Virulenzsteigerung von Pyogenes-Streptokokken durch Mäusepassage und über ihre Vergrünung nach intraperitonealer Injektion wurden im vorigen Abschnitt eingehende Versuche mitgeteilt. Sonst ließen sich aber durch intraperitoneale Injektion mit nachfolgender Plattenaussaat (nach 4 Std.) bei unseren 8 Streptokokkenarten, von denen wir jeweils einen Stamm prüften, keine Veränderungen nachweisen. — Es soll an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß Brownings (95) bei intraperitonealer Verimpfung des Strept. mucosus auf Mäuse aus dem Herzblut Keime ohne Schleimbildung züchten konnte, die auch nach 4 weiteren Tierpassagen in die schleimbildende Ausgangsform nicht mehr zurückschlugen. Uns selbst ist die Ueberführung der Strept. mucosus in eine nicht schleimig wachsende Modifikation nicht gelungen.

Zusammengefaßt geht aus den mitgeteilten Variations- und Umzüchtungsversuchen hervor, daß bei längerer Fortzüchtung auf Blutagar, bei Plattenaussaat von Einzelkeimen und bei intraperitonealer Injektion nur einzelne Merkmale hämol. Streptokokken (Hofbildung auf Blutagar, Virulenz) variabel sind, während die typischen Artmerkmale aller Streptokokkenarten konstant nachweisbar bleiben.

Negative Befunde bei Umzüchtungsversuchen sind kein Beweis für die Unmöglichkeit der Ueberführung einer Bakterienart in eine andere (Gotschlich 96). Aus unseren Untersuchungen geht aber doch so viel hervor, daß bisher einwandfreie Umzüchtungen einer Streptokokkenart in eine andere nicht beschrieben sind und auch jeden-

falls unter natürlichen Bedingungen **nicht so leicht erzielt werden** können. Somit ergibt sich für die Artenfrage der Streptokokken die wichtige Schlußfolgerung, **daß die einzelnen Streptokokkenarten nicht als Varianten einer einheitlichen Art, sondern als grundsätzlich verschiedene, nebeneinander gleichwertige Arten mit eigenen biologischen Merkmalen zu betrachten sind.**

11. Vergleichende Bakterizidieversuche mit dem Blut verschiedener Tierarten bei Streptokokken.

Bei vergleichenden Bakterizidieversuchen mit dem Blut verschiedener Tierarten konnte Bumm (97) erhebliche Unterschiede der bakteriziden Kräfte gegenüber Streptokokken feststellen. Am meisten bakterizid erwies sich ihm das Blut von Hunden, weniger das von Hammeln und Rindern, am wenigsten das von Kaninchen, Eseln und Pferden.

Wir selbst wollen hier über vergleichende Bakterizidieversuche berichten, die wir mit dem defibrinierten Blut vom Kaninchen, Meerschweinchen und Hammel anstellten. Das Kaninchenblut wurde gewonnen durch steriles Entbluten aus der Art. Carotis, das Meerschweinchenblut durch Herz- und das Hammelblut durch Venenpunktion. Nach der im Abschnitt 7 beschriebenen Technik des Bakterizidieversuchs vermischten wir eine Oese Streptokokkenverdünnung mit 2 ccm defibriniertem Blut, verarbeiteten davon einen ccm sofort, den anderen

Datum der Reinzüchtung, Bezeichnung und Art der geprüften Strept.-Stämme	Ausgangsmaterial der Stämme	15. 5. Kaninchenblut	21. 5. Hammelblut	26. 5. Meerschw.-blut	5. 6. Kaninchenblut	9. 6. Kaninchenblut	12. 6. Hammelblut	15. 6. Kaninchenblut	17. 6. Kaninchenblut	23. 6. Hammelblut
A Str. pyog. a, 28. 3.	Liquor	4,0	2,7	0,8	3,9	7,1	6,7	3,8	11,3	4,8
D „ 16. 4.	Angina	.	1,0	0,7	2,3	43,2	4,3	6,9	.	0,7
G „ 4. 4. 25	Mastoiditis	.	51,4	1,4	9,2	36,0	36,0	46,6	68,9	12,7
H „ 5. 4.	Erysipel		6,8	5,4	47,7	51,1	0,9	8,8	64,4	.
L „ 16. 4.	Phlegmone	.	1,4	1,2	26,2	33,0	12,0	.	.	.
M „ 17. 4.	Ulcus	.	10,7	1,2	24,4	14,6	53,0	.	.	.
O „ 21. 4.	Punktat	.	7,3	1,1	56,6	.	3,0	.	.	.
Q „ 29. 4.	Eiter	.	40,9	3,0	19,6	.	5,1	.	.	.
T „ 1. 5. 25	Abszeß	6,7	1,1	1,0	.	.	28.6	.	.	.
V „ 30. 4.	dgl.	53,8	1,5	1,3	.	.	30,0	.	.	.
X „ 29. 4.	„	.	2,1	1,0	.	.	2,0	.	16,8	.
Cl „ 13. 5.	Blut	.	29,2	1,1	.	.	15,6	.	.	.
Dl „ 7. 5.	Phlegmone	.	17,8	1,2	29,5	.	.	.	.	.
Gl „ 18. 5.	Angina	.	2,5	0,9	.	.	.	.	.	.
Y Str. pyog. b, 29. 4.	Abszeß	5,7	1,3	0.6	.	28,3	5,5	.	1,0	2,5
P Str. haem. lent. 28. 4.	Blut		18,0	0,6	17,9	.	2,1	.	.	.
N „ 16. 4.	Angina	.	3,2	3,9	44,3	.	1,4	.	.	26,5
Al Str. virid. a, 5. 5.	dgl.	1,5	1,1	1,5	0,2	.	0,4	.	.	1,4
Bl „ 13. 5	„	1,5	1,9	.	.	.	.	.	.	.
E Str. long. 1. 4.	„	1,0	1,0	1,0	.	.	0,8	.	.	0,9
S Pneum. 1. 5.	Blut	1,4	0,9	1,5	.	1,2	0,7	1,0	1,4	0,9
Fl. „ 18. 5.	Sputum	.	0,4	.	1,0	.	.	.	.	1,2
R Str. muc. 30. 4.	Mastoiditis	6,7	3,0	3.9	.	.	.	.	.	.
U „ 30. 4.	Otitis med.	19,5	1,3	2,7	.	.	.	.	.	.

nach 4stünd. Brutschrankaufenthalt zur Platte, und bestimmten aus der Kolonienzahl der beiden Patten den Vermehrungsfaktor. Die vorstehende Tab. (S. 448) unterrichtet über den Ausfall dieser Versuche.

In den vertikalen Reihen sind die am gleichen Tag mit demselben Blut erhaltenen Vermehrungsfaktoren der verschiedenen Streptokokkenstämme, in den horizontalen Reihen die dem gleichen Streptokokkenstamm zugehörigen Vermehrungsfaktoren verschiedener Daten und Blutarten zusammengestellt. Im allgemeinen sinkt bei längerer Fortzüchtung und mit abnehmender Virulenz auch die Vermehrungsgeschwindigkeit im Tierblut, allerdings aber nicht mit der Regelmäßigkeit und Gesetzmäßigkeit, wie wir das für das Menschenblut nachweisen konnten (Abschnitt 9). Obgleich sämtliche Stämme immer unter den gleichen Bedingungen fortgezüchtet und immer nur 24stünd. Blutagarkulturen verwendet wurden, ergeben sich bei einzelnen Stämmen dem Blut der gleichen Tierart gegenüber erhebliche und unerklärliche Unterschiede, die für irgendwelche Schlüsse aus Einzelergebnissen zur größten Vorsicht mahnen.

Zusammengefaßt aber bestätigen unsere Versuche doch die eingangs erwähnten Befunde Bumms. Die bakteriziden Kräfte gegenüber Streptokokken sind am stärksten im Meerschweinchenblut, erheblich schwächer im Hammel- und Kaninchenblut.

12. Vergleichende Bakterizidie- und Phagozytoseversuche mit dem Blut gesunder und kranker Menschen an Streptokokken.

[Aus dem Hygienischen Institut u. der Ohrenklinik der Univ. Heidelberg.] Dr. med. E. Wirth u. Dr. med. P. Boekels.

Aus dem Verhalten der infizierenden Streptokokken im Patientenblut versuchte C. Ruge II (98) eine Prognose für den klinischen Verlauf der Streptokokkeninfektion der Geburtswege aufzustellen, wobei er sich von dem Gedanken leiten ließ, daß die Abwehrkräfte des Blutes auf die Entstehung und auf den weiteren Verlauf von Streptokokkenerkrankungen einen maßgebenden Einfluß ausüben könnten. Er mischte die nicht durch Kultur veränderten Keime mit dem Blut ihrer Trägerin und beobachtete mikroskopisch auf einem heizbaren Objekttisch, wie schnell sich die Keime im Eigenblut vermehrten. Ruge kam zu dem bemerkenswerten Ergebnis, daß eine schnelle Vermehrung der Keime im Eigenblut zu einer ungünstigen Prognose berechtigt, während ungefährliche Keime sich erst nach 4 Std. vermehren. Philipp (99) kombinierte das Rugesche Eigenblutverfahren mit dem Schottmüllerschen Bakterizidieversuch (vgl. Abschnitt 7—9). Er versetzte 3 ccm defibriniertes Eigenblut mit ca. 200 Keimen, verarbeitete davon die Hälfte sofort mit Agar zur Platte 1, die restlichen 1,5 ccm nach 4stünd. Brutschrankaufenthalt zur Platte 2. Das Plattenverfahren erlaubt eine bessere Beurteilung des Verhaltens der Keime im Blut als die Methode der mikroskischen Betrachtung auf heizbarem Objekttisch. Philipp kommt zu dem gleichen Ergebnis wie Ruge: Auch seiner Meinung nach „läßt sich die Virulenz, d. h. das Verhältnis von der Invasionskraft der Kokken zu den Abwehrkräften des Körpers durch die Vermehrungsgeschwindigkeit der durch Kultur nicht veränderten Keime im Eigenblut darstellen", „wobei

es in erster Linie ankommt auf die invasiven Eigenschaften der Kokken, erst in zweiter Linie auf die Abwehrstoffe des Organismus". Vermehren sich die Keime in 4 Std. im Eigenblut über das 4fache, so ergibt sich daraus eine ungünstige Prognose. Die Prognose kann nach Philipp „unter Berücksichtigung der Lokalisation des Krankheitsprozesses" „besonders im Beginn der Erkrankung auf Grund der Virulenzprobe mit einem hohen Grade von Sicherheit" gestellt werden. Diese Befunde Ruges und Philipps fanden in der Folge von gynäkologischer Seite fast durchweg Bestätigung. (Gambetti 100, Dreyer 101, Bumm 102, Joseph u. Sachs 103). Bei Gambetti stimmte die auf Grund der „Ruge-Philippschen Virulenzprobe" gestellte Prognose mit dem klinischen Verlauf in 84 Proz. überein. — Zu ähnlichen Auffassungen über die Bedeutung der Blutabwehrkräfte für die Entstehung und für den weiteren Verlauf von Wundinfektionen bekennt sich Sauerbruch (104). Er stellt in seiner Arbeit „Wundinfektion, Wundheilung und Ernährungsart" folgende beachtenswerte Fragen: „Unter welchen Bedingungen ist eine Infektion bei einem vollkommen gesunden Menschen überhaupt möglich? Spricht die Ansiedlung von Keimen mit pathologischer Wirkung im Organismus nicht vielleicht dafür, daß er schon vorher krank oder minderwertig war, daß also die Krankheit begann, ehe die Keime überhaupt in Tätigkeit traten?" Eine Beköstigung mit Säureüberschuß soll nach Sauerbruch die Wundsekretion herabsetzen, eine Schrumpfung der Wunde und Festigung der Granulationen bewirken. „Die Wunden verlieren so ihren üblen Geruch, bakteriologisch sind Abnahme der Keimzahl und öfters verminderte Entwicklungsfähigkeit der Bakterien (geprüft nach dem Philippschen Verfahren), aber auch eine qualitative Aenderung der Flora festzustellen".

Gegen die theoretische Begründung der Ruge-Philippschen Virulenzprobe mit Eigenblut haben neben Hanow (105) vor allem Schottmüller und Lehmann Widerspruch erhoben. Wie der eine von uns bereits an anderer Stelle (Abschnitt 7—9) ausführlich besprochen hat, hatte Schottmüller schon vor Ruge und Philipp die wichtige Feststellung machen können, daß aus akuten, eitrigen Prozessen stammende, virulente Streptokokken sich im gesunden Menschenblut schnell vermehrten, und daß daher die Vermehrungsfähigkeit in gesundem Menschenblut als ein Gradmesser ihrer Virulenz angesehen werden kann (Schottmüller u. Barfurth, Die Bakterizidie des Menschenblutes Streptokokken gegenüber als Gradmesser ihrer Virulenz (106)). Schottmüller (107) hält daran fest, daß nicht die mehr oder minder ausgesprochene Bakterizidie des Blutes gegenüber den infizierenden Keimen im allgemeinen das Bestimmende ist für den Verlauf einer Krankheit, sondern vielmehr der Sitz der Infektion und der Grad der lokalen Gewebsschädigung. Er bezeichnet es „gradezu als eine Utopie, daß es jemals gelingen sollte, bei Beginn einer Streptokokken- oder Staphylokokkeninfektion aus dem Verhalten der infizierenden Keime im Patientenblut eine maßgebende Richtlinie für den Verlauf der Erkrankung zu gewinnen". Einen nachweisbaren Unterschied in der Wirkung des eigenen und fremden Blutes konnte Lehmann (108) nicht finden, auch war die Vermehrungsfähigkeit der Keime bei der wiederholten Prüfung

im Verlauf einer tödlichen Sepsis keineswegs immer eine zunehmende. — In der Tat sind Ruge und Philipp den Beweis dafür schuldig geblieben, daß zwischen gesundem und Patientenblut Unterschiede nachweisbar sind, d. h. daß ihre Virulenzprobe überhaupt etwas aussagt über die Abwehrkräfte des Krankenblutes und nicht lediglich, wie der Schottmüllersche Bakterizidieversuch, die Virulenz der Keime bestimmt. Der Nachweis herabgesetzter Blutabwehrkräfte zu Beginn der Erkrankung wäre für unsere Auffassungen vom Wesen der Streptokokkeninfektion von größter Bedeutung. Daher glaubten wir die negativen Befunde Lehmanns nachprüfen zu sollen. Wir legten uns die Frage vor, ob sich zu Beginn und im weiteren Verlauf von Streptokokkeninfektionen nicht doch irgendwelche Unterschiede zwischen dem Verhalten des Kranken- und gesunden Blutes gegenüber Streptokokken auffinden lassen? Dabei suchten wir nicht nur nach Unterschieden gegenüber virulenten Streptokokken, sondern vor allem suchten wir die Frage zu entscheiden, ob avirulente Laboratoriumsstämme, die sich nach unseren früheren Feststellungen in gesundem Blut nicht über das 4,0fache in 4 Std. vermehren können, im Krankenblut eine schnellere Vermehrung aufweisen? Neben der Vermehrungsfähigkeit der Keime im Bakterizidieversuch bestimmten wir in der Regel gleichzeitig die Freßtätigkeit der Leukozyten im Phagozytoseversuch nach der im folgenden zu beschreibenden Technik. Die Bakterizidieversuche führte E. Wirth, die Phagozytoseversuche P. Boekels aus.

A. Technische Ausführung der Bakteriezidie- und Phagocytoseversuche.

1) Blutentnahme.

Das zu prüfende Blut wurde kurz vor der Ausführung der Versuche mit einer 20,0 ccm Spritze, die vorher mit 6,0 ccm steriler 3proz. Na-Zitrat-Lösung gefüllt war, in einer Menge von 14,0 ccm aus der Armvene entnommen. (Le Blanc (109) fand die Bakterizidie des Pferdeserums durch Natrium citr.-Zusatz etwas erhöht; wir selbst konnen feststellen, daß dem Zitrat-Menschenblut gegenüber dem defibrinierten Menschenblut eine wesentlich erhöhte Bakterizidie gegen Streptokokken zukommt. Beim Defibrinieren bleibt ein Teil der Leukozyten im Fibringerinnsel hängen; um dem zu entgehen, verwandten wir Zitratblut, das sich uns bereits für die Virulenzbestimmung der Streptokokken (Abschnitt 9) sehr gut bewährt hatte.) Die Aufbewahrung des entnommenen Blutes erfolgte bis zur Verarbeitung und während derselben im Brutschrank (36°).

2) Alter. Herkunft und Fortzüchtung der Keime.

Die in das Blut zu impfenden Keime entstammten grundsätzlich nur 24 stdig. Reinkulturen auf Blutagar. Wir prüften jeweils virulente und avirulente Streptokokkenstämme. Die virulenten Stämme waren in der Regel frisch gezüchtete Eiterstreptokokken oder Streptokokken aus dem Krankheitsprozeß desselben Kranken, dessen Blut zur Untersuchung kam (Eigenstamm). Die avirulenten Strept.-Stämme waren in den letzten 2 Monaten in 1—2tägigem Intervall auf Blutagar fortgezüchtet und wiederholt im Mäuse- und Bakterizidie-Versuch auf ihre Avirulenz geprüft. Da man sich vorstellen

könnte, daß Streptokokken, die als Erreger einer Angina gezüchtet wurden, sich im Blute eines Anginakranken anders verhalten als z. B. Erysipel-Streptokokken, benutzten wir avirulente Strept.-Stämme möglichst verschiedener Herkunft: So war der Strept.-Stamm A als Erreger einer Meningitis, der Strept.-Stamm D als Erreger einer Angina, G als Erreger einer Mastoiditis, H eines Erysipels, X u. Y eines peritonsillären Abszesses gezüchtet worden.

3) Bakterizidieversuch.

Die Technik des Bakterizidieversuches wurde bereits an anderer Stelle ausführlich beschrieben (Abschnitt 7, 9). Hier sei nur noch einmal kurz darauf hingewiesen, daß wir als Vermehrungsfaktor das Verhältnis Kolonienzahl auf Platte 1: Kolonienzahl auf Platte 2 bezeichneten und daß diese Zahl angibt, um wieviel sich die Keime in 4 Std. im Menschenblut vermehrt haben. Die Fehlergrenze ist in hohem Maße abhängig von der Zahl der eingeimpften Keime. Sie beträgt bei Kolonienzahlen auf der ersten Platte des Bakterizidieversuches zwischen 50 und 200 ca. 20 Proz. Hesse (110) fand auch eine Fehlergrenze von 20 Proz. Versuche mit unter 50 Keimen auf der ersten Platte dürfen nicht verwertet werden. Ueber die Verdünnungsart der ins Blut zu impfenden Keime wird bei der Beschreibung des Phagozytoseversuches Näheres gesagt werden; denn wir kombinierten die beiden Versuchsanordnungen derart, daß uns die erste Platte des Bakterizidieversuches gleichzeitig über die im Phagozytoseversuch verwendete Keimzahl unterrichten sollte.

4) Phagozytoseversuch.

Die Freßtätigkeit der Leukozyten suchten wir dadurch zu bestimmen, daß wir 0,2 ccm Zitratblut im Spitzgläschen mit einer Oese Blutagarkultur gut mischten und nach 4stündig. Brutschrankaufenthalt (bei 36°) einen kleinen Tropfen der Blutbakterienmischung im Ausstrichpräparat (Giemsafärbung) mikroskopisch betrachteten. Wir zählten jeweils mindestens 300 Leukozyten und berechneten, wieviel Proz. von diesen gefressen hatten. Leider erwies sich die Fehlergrenze dieser Phagozytosebestimmung für die relativ geringe Spanne der gefundenen Prozentzahlen (60—100 Proz.) mit ca. 20 Proz. als recht erheblich, so daß nur größere Differenzen, die sich bei mehreren Versuchsreihen feststellen lassen, verwertet werden können. Es ist leicht einzusehen, daß die Intensität der Phagozytose, wenigstens wenn man als ihren Gradmesser die Prozentzahl der mit Kokken angefüllten Leukozyten ansehen will, im hohen Grade von der Zahl der den Freßzellen überhaupt angebotenen Keime abhängig sein muß. Wright fügte zur Bestimmung des opsonischen Index den Leukozyten eine Kokkenaufschwemmung von der Durchsichtigkeit einer 1/20 Milchverdünnung hinzu. Eine jeweils genau gleiche Keimzahl kann aber auch dieses Verfahren nicht garantieren. Ueber die jeweils mit einer Platinöse Blutagarkultur in 0,2 ccm Blut eingeimpfte Keimzahl sollte uns die erste Platte des Bakterizidieversuchs Auskunft geben: Wir entnahmen nach dem Verteilen der Strept.-Kultur im Zitratblut der Blut-Bakterien-Mischung 3 Platinösen, verdünnten diese mit 10 ccm Bouillon und nahmen davon wieder 3 Oesen zum Bakterizidieversuch. Erfahrungsgemäß enthielten diese 3 Oesen Bouillonverdünnung

ungefähr 200 Keime, also für den Bakterizidieversuch die richtige Keimzahl. Aus der Kolonienzahl der ersten Platte des Bakterizidieversuches ließ sich auf diese Weise leicht die im Phagozytoseversuch auf einen Leukozyten entfallende Anzahl der Keime berechnen. Wenn auf der ersten Platte des Bakterizidieversuches 100 Kolonien gewachsen sind, und wenn man die Durchschnittszahl der in 1 cmm Blut befindlichen Leukozyten mit 5000 annimmt, entfallen nach unserer Berechnung im Phagozytoseversuch **auf einen Leukozyten 15,7 Keime.** Da wir grundsätzlich nur Versuche mit 50—200 Kolonien auf der ersten Platte des Bakterizidieversuches verwerteten, konnten wir sicher sein, daß die den Leukozyten im Phagocytoseversuch angebotene Keimzahl nicht allzu großen Schwankungen unterworfen war.

B. Vergleichende Bakterizidie- und Phagozytoseversuche mit dem Blut gesunder und kranker Menschen.

Unter Anwendung der angeführten Methoden prüften wir die bakteriziden und phagozytären Kräfte des Blutes von 4 Patienten mit akuter Angina, von 3 Patienten mit akuter Otitis media und von gesundem Menschenblut:

1) Joseph Br. 24 Jahre. Patient litt schon öfter an Angina; jetzt wieder seit 2 Tagen Halsschmerzen: beide Gaumenmandeln akut entzündet, schmutzig-gelblicher Belag darauf. Mandelabstrich: Kultur hämolysierende Streptokokken. Temp. 38,5 Bakteriezidieversuche am 3. u. 4. Juli = 3. u. 4. Krankheitstag.

In Patientenblut eingeimpfter Streptokokkenstamm	Vermehrungsfaktor Blut vom 3. 7.	Vermehrungsfaktor Blut vom 4. 7.
A = avirulenter Lab.-Stamm aus Liquor (fortgezüchtet seit 28 3)	0,14	0,06
D = avirulenter Lab.-Stamm von Angina (fortgezüchtet seit 16. 4.)	.	0,30
G = avirulenter Lab.-Stamm von Mastoiditis (fortgezüchtet seit 4. 4.)	.	3,20
X = avirulenter Lab.-Stamm aus peritonsillärem Abszeß (fortgezüchtet seit 29. 4.)	2,90	0,20
M_2 = virulenter Stamm von Angina (Eigenstamm von Fall 4 Lina St., fortgezüchtet seit 2 Tagen)	36.50	35,70
H_2 = virulenter Stamm von einer Handphlegmone (fortgezüchtet seit 2 Tagen)	10,00	3.00

Der an 2 aufeinanderfolgenden Tagen angestellte Bakterizidieversuch ergab in unserem Falle Joseph Br., daß sich auch im Blut eines Anginakranken, ebenso wie im Blute des Gesunden, avirulente Laboratoriumsstämme nicht über das 4fache in 4 Std. vermehren, während die beiden virulenten Stämme M_2 und H_2 eine 36,5 bzw. 10,0fache Vermehrung aufweisen. Daß der Streptokokkenstamm H_2 sich bei der 2. Untersuchung ähnlich verhält wie ein avirulenter Stamm, erklären wir uns dadurch, daß er vermutlich zu denjenigen Streptokokkenstämmen gehört, welche bereits nach kurzer Fortzüchtung ihre Virulenz verlieren (vgl. Abschnitt 9).

Der Krankheitsverlauf im Falle Joseph Br. war ein günstiger: der Kranke war am 7. Krankheitstage fieberfrei und hatte keine Beschwerden mehr.

2) N. N. 30 Jahre. Es handelt sich um eine Angina die 3 Tage nach der Resektion des Nasenseptums auftrat. (Die postoperative Angina ist bekanntlich eine häufige Komplikation der Septumresektion.)

Die Versuche wurden am 3. Tage nach der Septumresektion (= 1. Krankheitstag der Angina) angestellt.

Eingeimpfter Streptokokkenstamm	Gesundes Blut		Krankenblut	
	Vermehr.-Faktor	Phagocytose	Vermehr.-Faktor	Phagocytose
Stamm A	0,60	82 Proz.	0,60	61 Proz.
Stamm 823 avirulent; aus Blut bei Sepsis (fortgez. seit 9. 1.)	1,80	64 „	1,10	.
Stamm L_6 avirulent; aus Mandelabstrich bei Scharlach (fortgez. seit 19. 1.)	0,75	82 „	1,50	70 „
Stamm K_6 avirulent; aus Eiter bei Otitis media (fortgez. seit 11. 1.)	1,20	71 „	0,80	85 „

Die angeführten Zahlen zeigen keine irgendwie verwertbaren eindeutigen Unterschiede zwischen der bakteriziden und phagozytären Kraft des Blutes von Gesundem und unseres Kranken. Besonders fällt auf, daß sich auch hier wieder keiner der avirulenten Streptokokkenstämme weder im gesunden noch kranken Blute über das 4fache vermehrte.

3) Frieda E. 25 Jahre. Am 10. Juni entwickelte sich auf der linken Seite ein peritonsillärer Abszeß. Im durch Punktion gewonnenen Eiter findet sich Strept. viridans. Nach dem Absinken der Temperatur und nachdem die Schmerzen fast ganz nachgelassen haben, entsteht am 16. Juni nochmals ein peritonsillärer Abszeß und zwar jetzt auf der rechten Seite.

In Krankenblut eingeimpfter Streptokokkenstamm	Rezidiv rechts			
	Vermehr.-Faktor 13. 6.	Vermehr.-Faktor 15. 6.	Vermehr.-Faktor 16. 6.	Phagocytose 16. 6.
Stamm A	0,5	0,7	2,4	84 Proz.
„ D	—	1,1	1,4	91 „
„ X	0,9	1,9	0,9	89 „
„ Y	0,7	1,8	0,8	92 „

Die Ergebnisse der an 3 verschiedenen Tagen mit je 4 avirulenten Laboratoriumsstämmen ausgeführten Bakteriezidieversuche bestätigen lediglich wieder die Tatsache, daß avirulente Strept.-Stämme sich im Menschenblut nicht über das 4fache in 4 Std. vermehren können. Auch die am 1. Tag des Rezidivs entnommene Blutprobe zeigt in ihren bakteriziden und phagozytären Kräften keine Abweichungen vom Verhalten des gesunden Menschenblutes.

Die Kranke war am 24. Juni fieber- und beschwerdefrei.

In Krankenblut eingeimpfter Streptokokkenstamm	Blutprobe vom 30. 6.		Blutprobe vom 1. 7.		Blutprobe vom 3. 7.
	Vermehr.-Faktor	Phagocytose	Vermehr.-Faktor	Phagocytose	Verm.-Fakt.
Stamm A	2,6	86 Proz.	0,7	100 Proz.	0,7
Stamm X	1,1	86 „	1,0	71 „	1,7
Stamm Y	1,0	93 „	0,7	91 „	3,0
Stnmm M_2 = virulenter Eigenstamm, fortgez. seit 2 Tagen	21,0	86,5 „	31,7	83 „	27,0
Stamm H_2 = virulenter Stamm von einer Handphlegmone, fortgez. seit 2 Tagen	.	.	.	.	15,0

4) Lina St. 21 Jahre. Es besteht eine Ozaena, die mit Elektrolyse und Säureinhalation behandelt wurde. Nach 2maliger Elektrolyse am 28. Juni plötzlich Halsschmerzen, Beläge auf beiden Tonsillen, 39° Fieber. Tonsillenabstrich: Beiderseits hämolys. Streptokokken (= Stamm M_2). (Siehe Tabelle S. 454 unten.)

Die avirulenten Laboratoriumsstämme vermehrten sich wieder nicht über das 4fache. Dagegen ist die Vermehrungsfähigkeit der beiden virulenten Stämme wieder auffallend hoch (vgl. Fall 1). Der Eigenstamm M_2 tötete eine weiße Maus bei subkutaner Impfung in 48 Std. Obwohl es sich um eine Infektion mit starkvirulenten Keimen handelte, war der klinische Verlauf der Angina nicht ungünstig. Die Kranke war bereits am 4. Juni Fieber- und Beschwerdefrei. Die Freßtätigkeit der Leukozyten zeigte weder zwischen virulenten und avirulenten Strept.-Stämmen, noch im Vergleich zum gesunden Blut eindeutige Unterschiede.

5) Eduard K. 11 Jahre. Im Anschluß an Schnupfen Ohrenschmerzen und Ohrenlaufen. Fieber bis 40°. Am 4. 1. (= 4. Krankh.-Tag). Aufnahme in die Klinik. Starke Rötung und Vorwölbung des Trommelfells. Parazentese. Im Ohreiter finden sich kulturell hämolys. Streptokokken (= Stamm Kl).

In Blut eingeimpfter Streptokokkenstamm	Gesundes Blut		Krankenblut	
	Vermehr.-Faktor	Phagocytose	Vermehr.-Faktor	Phagocytose
Stamm A	0,35	69 Proz.	0,36	88 Proz.
Stamm Kl = Eigenstamm, fortgezüchtet seit einem Tag	0,31	73 „	0,72	71 „
Stamm Ke = avirulenter Stamm von Otitis, fortgez. seit 10. 12.	0,11	75 „	0,29	81 „

Die Versuche wurden am 5. 1. (= 5. Krankheitstag) ausgeführt.

Zwischen dem Verhalten des gesunden und kranken Blutes ergeben sich wieder keine Unterschiede. Auffallend ist aber die geringe Vermehrungsfähigkeit des erst in 1. Generation fortgezüchteten Eigenstammes Kl. Dieser Stamm war auch am nächstfolgenden Tage (6. 1.) für die Maus nicht mehr infektionsfähig. Der geringen Virulenz des infizierenden Strept.-Stammes entspricht vielleicht der äußerst günstige Verlauf der Erkrankung. Denn am 6. 1. war der Junge bereits fieberfrei.

6) Ferdinand Bl. 49 Jahre. Der Mann erlitt am 4. Juli einen Unfall (Schädeltrauma). Anschließend Otitis media. 1 cm hinter dem hinteren Warzenfortsatzrande findet sich eine Schwellung mit Druckempfindlichkeit. Das Trommelfell ist wegen einer starken Schwellung der Gehörgangswand nicht sichtbar. Die Flüsterstimme kann nur an der Muschel wahrgenommen werden. Antrotomie am 6. 7. Durch den Warzenfortsatz verläuft eine Bruchlinie, es besteht eine Mastoiditis und außerdem ein großer Extraduralabszeß. Im Eiter dieses Abszesses sind kulturell hämolys. Streptokokken.

Wenn auch in diesem Fall augenscheinlich die lokale Gewebsschädigung für die Streptokokkeninfektion letzten Endes verantwortlich zu machen ist, so könnte man immerhin doch daran denken, daß vielleicht verminderte Blutabwehrkräfte die Infektion begünstigt hätten. Wir prüften daher am 7. 7. die bakteriziden und phagozytären Blutabwehrkräfte:

Ins Krankenblut eingeimpfte Streptokokkenstämme	Vermehr.-Faktor	Phagocytose
Stamm A	2,1	77 Proz.
„ D	1,6	76 „
„ G	1,9	73 „
„ X	1,8	77 „
„ Y	1,1	77 „

Es zeigte sich aber, daß die avirulenten Laboratoriumsstämme sich auch im Blut dieses Kranken nicht über das 4fache vermehrten, und daß auch die Freßtätigkeit

der Leukozyten nicht wesentlich geringer war als im gesunden Blut. Die Krankheit nahm nach der operativen Behandlung einen günstigen Verlauf.

7) Elisabeth v. Sch. Das 14 jährige Mädchen erkrankte am 10. Jan. unter heftigen allgemeinen Symptomen (Unlustgefühl, zeitweise Benommenheit, Fieber bis 41°) an einer Otitis media. Das Trommelfell ist hinten, oben vorgewölbt und hat eine zentrale Perforation. Der Warzenfortsatz ist druckempfindlich. Da die heftigen Krankheitserscheinungen nicht nachlassen, und meningitische Symptome auftreten, wird der Warzenfortsatz am 17. 1. operativ eröffnet. Die Warzenfortsatzzellen sind stark infiltriert, im Eiter finden sich kulturell hämolys. Streptokokken (= Stamm 804) und Staphyloc. aureus. Die Lumbalpunktion am 19. 1. ergibt eitrigen Liquor mit Staphyloc. aureus. Blutkultur am 19. 1. und 20. 1. blieb steril.

Das Verhalten der bakteriziden und phagozytären Blutabwehrkräfte bei diesem Fall fortschreitender Sepsis prüften wir am 20. 1. Gleichzeitig machten wir dieselben Versuche mit gesundem Menschenblut.

Ins Blut geimpfte Streptokokkenstämme	Gesundes Blut		Krankenblut	
	Vermehr.-Faktor	Phagocytose	Vermehr.-Faktor	Phagocytose
Stamm A	0,14	75 Proz.	0,10	47 Proz.
Stamm 804 = Eigenstamm, fortgezüchtet seit 18 1.	0,44	67 „	0,44	77 „
Stamm I_6 = virulenter Stamm von Scharlachangina, fortgezüchtet seit 19. 1. (vergl. Abschnitt 9)	6,5	88 „	0,42	75 „

Auffällig an den Zahlen der obigen Tabelle ist besonders, daß der Eigenstamm der Kranken sich wohl im Blut vom Gesunden als auch im Eigenblut der Kranken ebenso verhält, wie der avirulente Stamm A. Ein Mäuseversuch bestätigte die Avirulenz dieses Eigenstammes (804). Aus dieser Tatsache läßt sich vielleicht auch erklären, daß dieser avirulente Streptokokkenstamm nicht in den Liquor vorgedrungen ist, in welchem — wie bereits erwähnt — nur der ebenfalls im Ohreiter nachgewiesene Staphylokokkus aureus als Erreger der Meningitis gefunden wurde.

Der virulente Stamm I_6, über dessen Virulenz im Bakterizidie- und Mäuseversuch bereits im Abschnitt 9 Näheres gesagt wurde, zeigt entsprechend seiner Virulenz im Mäuseversuch im gesunden Blute eine Vermehrung auf das 6,5fache. Nach unseren bisherigen Ergebnissen, in welchen wir Unterschiede der bakteriziden Kräfte zwischen gesundem und krankem Blute nicht feststellen konnten, hätte man eine gleiche Vermehrung im Patientenblute erwarten dürfen. Wenn sich dagegen der virulente Stamm im Patientenblute nicht vermehrte sondern sogar vermindert wurde, so können wir uns dies nur damit erklären, daß sich im Verlaufe der 10 Krankheitstage bereits erhebliche Abwehrkräfte im Blute der Kranken gebildet hatten. Da dies aber der einzige Fall ist, in dem wir — im Gegensatz zum gesunden Blute — im Krankenblute eine Abnahme virulenter Keime feststellen konnten, möchten wir diese Erklärung nur mit Vorbehalt aussprechen. Ob im Verlauf von Streptokokkenerkrankungen eine Bildung von Abwehrkräften im Blute des Erkrankten tatsächlich stattfindet und wirklich durch den Bakterizidieversuch nachweisbar ist, müßte durch weitere Versuche noch geklärt werden.

Die gleichzeitig angestellten Phagozytoseversuche ergaben, daß sowohl gesundes als Krankenblut sich gegenüber virulenten sowohl wie

avirulenten Streptokokkenstämmen annähernd gleich verhielten. (Die Kranke erlag ihrer Meningitis am 17. Krankheitstage.)

Zusammenfassung.

Wenn wir die Ergebnisse unserer Bakterizidie- und Phagozytoseversuche bei 7 Fällen akuter Streptokokkeninfektion zusammenfassend überblicken, so konnten wir (abgesehen von dem letzten Fall mit erhöhten bakteriziden Kräften im Krankenblut) wesentliche Unterschiede zwischen gesundem und krankem Blut nicht auffinden. Avirulente Laboratoriumsstämme vermehrten sich weder im gesunden Blut noch im Krankenblut über das 4fache, während virulente Streptokokken sowohl im Blute des Gesunden als auch im Krankenblute eine hohe Vermehrungsfähigkeit aufwiesen. Der Bakterizidieversuch mit Eigenblut nach Philipp-Ruge sagt daher (entsprechend dem Schottmüllerschen Bakterizidieversuch mit gesundem Menschenblut) lediglich etwas aus über den Virulenzgrad der infizierenden Streptokokken; einen Einblick in die Abwehrkräfte, die dem Organismus zu Beginn der Erkrankung gegen diese Keime zur Verfügung stehen, gewährt er nicht. Daß der durch den Bakterizidieversuch bestimmte Virulenzgrad der infizierenden Keime unter Berücksichtigung der Lokalisation des Krankheitsprozesses prognostisch verwertet werden kann, ist auch nach unseren Befunden nicht ganz von der Hand zu weisen (vgl. Fall 5 u. 7). Insbesondere scheint nach der eingangs angeführten Literatur bei Streptokokkeninfektionen der Geburtswege die durch den Bakterizidieversuch gemachte Feststellung von hochvirulenten Keimen zu einer ungünstigen Prognose zu berechtigen. Dasselbe gilt aber keineswegs für Streptokokkeninfektionen aller Organe. So beweist unser Beispiel 4, daß eine Angina mit Keimen von hoher Vermehrungsfähigkeit im Eigenblute des betr. Kranken keineswegs ungünstig verlaufen ist. Berücksichtigt man außerdem, daß die Virulenz hämolys. Streptokokken oft sehr schnell wechselt und insbesondere durch Einimpfen der Keime in lokal geschädigtes Gewebe gesteigert werden kann (vgl. Abschnitt 9), so wird man das Entscheidende für den Verlauf einer Streptokokkeninfektion sicherlich mit Schottmüller (107) in der Lokalisation des Krankheitsprozesses und in dem Ausmaße der lokalen Gewebsschädigung suchen müssen.

Schluß.

Ausgehend von den widerspruchsvollen Auffassungen in der Literatur über die Artenfrage der Streptokokken, suchten wir durch experimentelle Studien an 171 Streptokokkenstämmen verschiedener Herkunft eine kritische Darstellung unserer heutigen Kenntnis der Streptokokken zu geben. In 12 Abschnitten behandelten wir die wichtigsten Probleme, und kamen dabei jeweils zu folgenden Ergebnissen:

1) Nicht alle Kokkenarten lassen sich auf eine bestimmte Art des Wachstums festlegen; auch bei längerer Beobachtung von Reinkulturen ist man manchmal nicht imstande, einen fraglichen Kokkenstamm den Staphylo- oder Streptokokken zuzuteilen.

2) Die Wachstumsart auf Schottmüllerschem Blutagar ist ein charakteristisches Merkmal gewisser Streptokokkenarten (Strept. haemol., Strept. virid., Pneumokokken, Strept. muc.). Bei 1 bis 2tägiger Ueberimpfung auf Blutagar änderte sich das typische Verhalten dieser Streptokokkenarten in 10 Monaten nicht.

3) Der Agarkultur dürfte nur in Verbindung mit anderen Differenzierungsverfahren eine Bedeutung für die Artunterscheidung der Streptokokken zukommen. Das makroskopische Aussehen der Bouillonkultur erlaubt für keine Streptokokkenart, das der Aszitesbouillonkultur nur für den Strept. longissimus ohne die gleichzeitige Anwendung anderer Differenzierungsverfahren eine sichere Diagnose.

4) Morphologisch ändern sich alle Streptokokkenarten mit dem Ueberimpfen auf andere Nährböden, ohne dadurch ihre typischen Artmerkmale auf Nährböden zu verlieren. Daher ist eine Artunterscheidung der verschiedenen Streptokokken im allgemeinen und insbesondere der menschenpathogenen morphologisch nicht möglich.

5) Der Strept. lactis (Heim) kann allein durch sein Verhalten in Lackmusmilch (erst weiß, dann rot) von den anderen Streptokokkenarten unterschieden werden. Neutralrot-, Lackmus- und Malachitgrünmilch sind brauchbare Nährböden für die Differenzierung der Streptokokken.

6) Kohlehydrate und Galle können die Säurebildung der Streptokokken in Lackmusmilch wesentlich beeinflussen. Es ergeben sich nicht nur Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Kohlehydrate gegenüber der gleichen Streptokokkenart sondern auch Unterschiede im Verhalten der verschiedenen Streptokokkenarten gegenüber dem gleichen Kohlehydrat.

Das Verhalten zu den Kohlehydraten Arabinose, Dextrose, Glyzerin, Laktose und die Empfindlichkeit gegen Galle bzw. taurochols. Natrium sind typische und konstante Merkmale der einzelnen Streptokokkenarten.

7) 20 Differenzierungsverfahren haben sich uns kombiniert für die Artunterscheidung der Streptokokken bewährt.

8) Unsere 171 Streptokokkenstämme ließen sich durch diese Differenzierungsverfahren in 8 grundsätzlich verschiedene Arten einteilen.

9) Ein Gradmesser der Virulenz hämol. Streptokokken ist die Vermehrungsgeschwindigkeit der Keime im Schottmüllerschen Bakterizidieversuch. Das Ergebnis der Virulenzprüfung im Bakterizidieversuch stimmt in der Regel mit der Virulenzprüfung an der weißen Maus überein. Die Virulenz hämol. Streptokokken läßt sich experimentell vermindern und steigern. Die Virulenzsteigerung avirulenter Laboratoriumsstämme gelingt oft durch

Einimpfen in lokal geschädigtes Gewebe. Die experimentell vergrünten Pyogenes-Streptokokken sind nicht identisch mit dem Streptococcus viridans (Schottmüller).

10) Bei Variations- und Umzüchtungsversuchen erwiesen sich nur einzelne Merkmale hämolys. Streptokokken als variabel (Hämolyse auf Blutagar, Virulenz). Die typischen Artmerkmale auf den Differentialnährböden blieben konstant erhalten. In der Literatur sind bisher einwandfreie Umzüchtungen nicht beschrieben worden. Daher sind die einzelnen Streptokokkenarten nicht als Varianten einer einheitlichen Art, sondern als nebeneinander gleichwertige Arten mit grundsätzlich verschiedenen biologischen Merkmalen zu betrachten.

11) Das Blut verschiedener Tierarten zeigt in seinen bakteriziden Kräften gegenüber Streptokokken erhebliche Unterschiede.

12) Im Blut von Patienten mit akuten Streptokokkeninfektionen (Angina, Otitis media) sind zu Beginn der Erkrankung die bakteriziden und phagozytären Abwehrkräfte gegenüber Streptokokken im Vergleich zum gesunden Menschenblut nicht nachweisbar herabgesetzt. Der Bakterizidieversuch mit Eigenblut (Philipp-Ruge) erlaubt daher keinen Einblick in die Abwehrkräfte des Organismus gegen eine beginnende lokale Streptokokkeninfektion.

Zum Schluß ist es uns eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. E. G. Dresel, auf dessen Anregung und unter dessen Leitung die mitgeteilten Untersuchungen ausgeführt wurden, auch an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank auszusprechen. Ferner sind wir Herrn Prof. H. Schottmüller und seinem Assistenten Herrn Dr. W. Lehmann für die freundliche Ueberweisung von Viridans-Streptokokken zu Dank verpflichtet.

Literatur.

73) Kuczinsky u. Wolff, Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 73; Berl. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 33, 34. 1921. S. 774. Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 1413. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 92. S. 119. — 74) Hintze u. Kühne, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 88. S. 352. — 75) Morgenroth u. Schnitzer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 97. S. 77. Bd. 99. S. 221. Bd. 101. S. 282. — 76) Schnitzer u. Munter, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 99. S. 389. — 77) Hubert, Med. Klinik 1926. S. 78. — 78) Schottmüller, Kulturmethoden. 1923. 36 u. Münch. med. Wochenschr. 1924. S. 30. — 79) Ders., Kulturmethoden. 1923. 41. — Ders. u. Barfurth, Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh. Bd. 3. 1917 — 80) Philipp, Münch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 16 u. Klin. Wochenschr. 1923. Nr. 42. — 81) Cafiero, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 74. S. 208. — 82) u. 83) Meyer, Fr., Berl. klin. Wochenschr. 1919. S. 1172. 1921 S. 1539. — 84) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 1172. — 85) Neufeld, Kolle-Wassermann Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 4. 1912. S. 524. — 86) Ungermann, Arb. a. d. R.-Ges.-Amt. Bd. 51. S. 180. — 87) Pulvermacher, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 97. S. 89. — 88) Küstner, Centralbl. f. Gyn. 1924. — 89) Bumm, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 94. S. 403. — 90) Gotschlich, Handb. d. hyg. Untersuchungsmethoden. Bd. 1 1926. S. 472. — 91) Schottmüller, Münch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 30. — 92) Ders., Kulturmethoden 1923. 36. — 93) Morgenroth, Tugendreich u. Bumke, Dtsch. med. Wochenschr.

1914. Nr. 538. — 94) Gotschlich, Handb. d. hyg. Untersuchungsmethoden. Bd. 1. 1926. S. 542. — 95) Brownings, Zeitschr. f. d ges. Hyg. 1923. S. 38. — 96) Gotschlich, Handb. d. hyg. Untersuchungsmethoden. Bd. 1. 1926. S. 545. — 97) Bumm, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 94. S 403. — 98) Ruge, C., Med. Klin. 1923. 7. Arch. f. Gyn. Bd. 121. S. 363. — 99) Philipp, E., Münch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 16; Kl. Wochenschr. 1923. Nr. 42. Arch. f. Gyn. Bd. 121. S. 320. — 100) Gambetti, Dtsch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 18; Radice, Dtsch. med. Wochenschr. 1923. S. 1296. — 101) Dreyer, Centralbl. f. Gyn. Bd. 31. 1924. — 102) Bumm, Centralbl. f. Gyn. Bd. 37. 1924. — 103) Joseph u. Sachs, Klin. Wochenschr. 1924. Nr. 1493. — 104) Sauerbruch, Münch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 38. — 105) Hanow, Arch. f. Gyn. 1924. S. 279. — 106) Schottmüller u. Barfurth, Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh. Bd. 3. 1917. S. 290. — 107) Schottmüller, Münch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 30. — 108) Lehmann, Klin. Wochenschr. 1924. Nr. 40. — 109) Le Blanc, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 61. S. 68. — 110) Hesse, Arch. f. Ohrenh. 1925.

Ueber einen Fall von tödlicher Sepsis mit seltenem bakteriologischen Befund.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. W. Silberschmidt).]

Von **Emil Rebmann**, Assistent am Institut.

Am 2. 6. 1925 wurde dem Hygiene-Institut der Universität Zürich von einer Davoser Tuberkulose-Heilstätte Blut einer 18jährigen Patientin W. zur bakteriologischen Untersuchung zugesandt mit der klinischen Diagnose: „Sepsis? nach Angina, Lungenabszesse, Milztumor, Purpura septica".

Nach 24 Std. wuchsen in den für solche Untersuchungen in üblicher Weise angelegten Kulturen gramnegative, bewegliche Stäbchen in beträchtlicher Menge, die auf Grund ihres kulturellen und biologischen Verhaltens keine Identifizierung erlaubten.

Da an die Möglichkeit einer zufälligen Verunreinigung gedacht werden mußte, ersuchten wir sofort um Zusendung einer neuen Blutprobe. Diese traf am 10. 6. ein und wurde sofort in der gleichen Weise wie das erste Mal verarbeitet. Das Resultat der 2. Untersuchung war mit dem der 1. übereinstimmend.

Die Patientin starb am 14. 6. 1925 nach einem Krankheitsverlauf, welcher nach der mir freundlich zur Verfügung gestellten Krankengeschichte das klinische Bild einer fieberhaften Sepsis mit Dyspnoë und zunehmender Herzinsuffizienz zeigte.

Da ich in der Literatur keinen Mikroorganismus beschrieben fand, mit dem sich der aus dem Blut der Patientin W. gezüchtete hätte identifizieren lassen, schien mir die Veröffentlichung dieses interessanten Falles angezeigt.

Der erwähnte Mikroorganismus, den ich in dieser Arbeit als Bakt. „W" bezeichne, ist ein feines, ovoides Stäbchen, schlanker als Bact. coli, mit abgerundeten Enden, sehr häufig in Diplostellung wie

Pneumokokken; nicht selten sieht man eine Anordnung in Ketten bis zu 10 Gliedern.

In den ersten frischen Kulturen waren nur kurze Gebilde vorhanden, in späteren Ueberimpfungen wurden, hauptsächlich in älteren Kulturen, auch längere Stäbchen gefunden; immerhin blieben auch hier die ovoiden Formen stets in der Ueberzahl. Die langen Stäbchen sind 4—8mal so lang wie breit.

In alten Kulturen auf festen Nährböden treten gelegentlich Involutionsformen von der 2—3fachen Dicke der übrigen Bakterien auf. Sporen konnten nie gesehen werden.

Bakt. „W“ ist gut beweglich, hauptsächlich in flüssigen Nährböden. Sobald auf ihnen stärkere Schleimbildung entsteht, verschwindet die Eigenbewegung. Die Färbung gelingt mit allen gebräuchlichen Farbstoffen. Mit Methylenblau ist sie blaß, hauptsächlich in Ausstrichen aus stark schleimbildenden Kulturen, dabei oft unregelmäßig, mit den anderen Farben kräftig und regelmäßig. Bakt. „W“ ist gramnegativ.

Erwähnenswert ist, daß in den ersten Kulturen aus dem Blute der Pat. und von Versuchstieren mit Methylenblau und Karbolfuchsin oft eine stärkere Färbung der Bakterienenden nachweisbar war, nicht aber Polfärbung nach Neisser.

Die Geißelfärbung nach Loeffler ergab meist 1—2, seltener 3 bis höchstens 4, an einem Pol büschelartig gelagerte Geißeln.

Das Wachstum ist auf allen gebräuchlichen Nährböden bei einer Temperatur von 30—47^0 gut, das Optimum liegt bei Bruttemperatur. Auch in der Gelatine bei 21^0 wächst Bakt. „W“ rasch, in den anderen Nährböden bei Zimmertemperatur kümmerlich.

Zur Prüfung des Einflusses der H-Ionenkonzentration auf das Wachstum wurden Bouillonröhrchen mit einem pH von 4,0—8,4 beimpft und in den Brutschrank gestellt. Die Röhrchen mit pH 7,0—8,4 zeigten gutes, ein Röhrchen mit pH 6,6 schlechtes Wachstum, in denjenigen von weniger als pH 6,6 blieb es ganz aus.

Bakt. „W“ wächst aërob bedeutend besser als anaërob.

Gelatineplatten: Nach 48 Std. sind die Kolonien makroskopisch gut sichtbar. Sie sind alle scharf begrenzt, zum Teil rund, zum Teil blattartig gelappt, häufig mit einem dichteren, erhabenen Zentrum und einer helleren Peripherie. Nicht selten beobachtet man eine feine, radiäre, ziemlich regelmäßige, vom Zentrum ausgehende Streifung. Die Kolonien sind zuerst grauweiß, nehmen aber schon nach 72 Std. eine gelbe Färbung an, die sich mehr und mehr verstärkt. Nach 4—6 Tagen tritt eine schalenförmige Verflüssigung der Kolonien ein und das auf der Oberfläche schwimmende gelbe Häutchen, welches einen Durchmesser von 2—4 mm erreicht, bekommt mit der Zeit ein gerunzeltes, warzenförmiges Aussehen.

Gelatinestich: Das Wachstum erfolgt im Stichkanal als weißer, allmählich dichter werdender Faden. Die Verflüssigung beginnt am 6.—8. Tage und geht strumpfförmig bis in die Tiefe des Stiches und schreitet dann langsam weiter, so daß nach etwa 3 Wochen die ganze Gelatinemasse verflüssigt ist. Sie wird durch feine, gelbliche Fetzen getrübt, die sich allmählich zu Boden senken; bei ruhigem Stehenlassen bildet sich ein dichtes, gelbes Oberflächenhäutchen.

Glyzerinagar: Nach 24 Std. weißlichgraue, feuchte, leicht schleimige, zum Teil runde, zum Teil etwas unregelmäßige Kolonien, häufig mit einem dichteren Zentrum und einer feinen, radiär ange-

ordneten Streifung. Schon nach 48 Std. färben sie sich mehr und mehr gelblich und werden stärker schleimig und fadenziehend. Aeltere Kolonien bekommen eine gerunzelte, warzenähnliche Oberfläche.

Ganz auffällig ist das Schleimbildungsvermögen auf Agar. Schon nach 1—2 Tagen ist auf dem Schrägagar die Schleimschicht 1—2 mm dick und bildet einen fest aufsitzenden, zusammenhängenden Belag. Bei den täglichen Ueberimpfungen von Agar auf Agar konnte ich wiederholt beobachten, daß die Schleimbildung gelegentlich schnell zurückgehen und sogar ganz aufhören kann, so daß man an die Möglichkeit einer Verunreinigung denken könnte. Bei der Weiterimpfung dieser schleimlosen Kulturen entstehen aber wieder schleimbildende.

Auf Loefflerschem Rinderserum ist das Wachstum gleich wie auf Agar; es tritt keine Verflüssigung ein. — Blutagarplatte: Gleiches Wachstum wie auf gewöhnlichem Agar, keine Hämolyse. — Typhus-Spezialnährböden (Dreifarbenagar und Endo-Platte): Die Kolonien sind in den ersten 24 Std. farblos wie Typhuskolonien, später wird der Nährboden blau resp. rot verfärbt. — In Traubenzucker- und Neutralrotagar keine Gasbildung und keine Entfärbung. — Auf Kartoffel bildet sich schon in 24 Std. ein üppiger, feuchtglänzender, schleimiger Belag von eigelber Färbung.

Die ersten Kulturen auf festen Nährböden entwickelten einen süßlich-aromatischen Geruch, der sich mit der Zeit fast gänzlich verlor. — Die gewöhnliche Bouillon trübt sich nach 24 Std. gleichmäßig ohne Bildung von Bodensatz. Nach 48 Std. entsteht eine zusammenhängende, trockene Kahmhaut, die beim Schütteln zu Boden sinkt. — Nach 4—5 Tagen wird die Bouillon schleimig. Es bildet sich ein dicker, flockiger Bodensatz, der sich gelb färbt, ebenso die Kahmhaut.

Milch gerinnt erst nach 3—5 Wochen, sowohl bei Brut-, wie bei Zimmertemperatur; die Reaktion bleibt unverändert. — Lackmusmolke zeigt in den ersten 48 Std. einen leichten Farbumschlag in Blauviolett, der nach 72 Std. wieder in das ursprüngliche Blau zurückgeht. Entsprechend ist die Reaktion zuerst leicht sauer, nachher neutral.

Chemische Leistungen: In Traubenzuckerbouillon tritt nach 24—36 Std. starke Gasbildung mit saurer Reaktion ein, in Milchzuckerbouillon entsteht kein Gas und die Reaktion bleibt neutral. — In Peptonwasser ist keine Indolbildung nachweisbar.

Tierversuche: Die Virulenz des Bakt. „W“ wurde an Kaninchen, weißen Mäusen, Ratten und Meerschweinchen geprüft.

Die intraperitoneale Injektion einer größeren Bakterienmenge, z. B. die Aufschwemmung einer 3tägigen Agarkultur oder von 6 Oesen einer frischen Kultur tötete junge, 250 g schwere Meerschweinchen in 24 Std., ebenso 1,5 ccm einer 24stünd. Bouillonkultur. Die subkutane Injektion wurde im allgemeinen besser ertragen. Auf Injektion älterer Kulturen oder kleinerer Mengen überlebten die Tiere oder gingen erst nach 8—14 Tagen zugrunde.

Bei den akut gestorbenen Tieren ließen sich die Bakterien im Herzblut und in den verschiedenen Organen nachweisen, bei den später gestorbenen waren die Züchtungsversuche häufig erfolglos.

Auch die weiße Maus ist empfänglich. Nach intraperitonealer Injektion von einer dichten Aufschwemmung einer Agarkultur oder von 1,0 ccm Bouillon starben die Tiere innerhalb 24 Std.; die Sektion ergab ein seröses Peritonealexsudat und eine vergrößerte Milz. Aus Exsudat und Herzblut ließ sich das Bakt. „W“ in Reinkultur züchten.

Kleinere Mengen, z. B. 2 Oesen einer Agarkultur wurden auch von Mäusen ohne Krankheitserscheinungen vertragen.

Kaninchen und Ratten wurden nach Injektion von 0,5 und 1,0 ccm einer Bouillonkultur intravenös und subkutan leicht krank, erholten sich aber bald wieder.

Erwähnenswert sind Fütterungsversuche mit Agar- oder Bouillonkulturen. Am Tage nach der zweiten Fütterung gingen in 3 Versuchsreihen mit je 2 Mäusen sämtliche 6 Tiere zugrunde, im Darminhalt aus der Ileo-cöcalgegend war neben Bact. coli auch Bakt. „W“ nachweisbar.

Meerschweinchen und Ratten ertrugen wiederholte Fütterungen beschwerdelos.

Serologisches: Das Blutserum der Patientin W. agglutinierte das isolierte Bakt. „W“ nicht, ebenso nicht Bact. typhi, paratyphi A und B, Gärtner und Aertryck; entsprechend wurde Bakt. „W“ von den Standardseren dieser Mikroorganismen nicht beeinflußt.

Zur Gewinnung eines Immunserums wurde ein Kaninchen in Zwischenräumen von je 5 Tagen mit 0,3, 0,6, 1,2 und 2,0 ccm einer bei 58⁰ abgetöteten Aufschwemmung ven Bakt. „W“ intravenös injiziert und am 9. Tag nach der letzten Injektion entblutet. Im Widalschen Versuch wurde das Bakt. „W“ von diesem Serum bis zu einer Verdünnung von 1:3200 vollständig agglutiniert, eine nach dem Fickerschen Verfahren hergestellte Emulsion von Bakt. „W“ bis zu einer Serumverdünnung von 1:6400 präzipitiert.

Die gleichen Versuche mit Typhus-, Paratyphus A- und B-, Gärtner- und Aertryck-Bakterien verliefen negativ. — Auch ein Komplement-Bindungsversuch mit dem gewonnenen Serum und Bakt. „W“ ergab ein positives Resultat.

Das aus dem vorbehandelten Kaninchen erhaltene Serum zeigte eine schützende Wirkung, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht: 4 Meerschweinchen erhielten intraperitoneal je 1,5 ccm einer 24stünd. Bouillonkultur, 2 der Tiere dazu noch je 1,0 ccm Immunserum. Diese beiden Tiere blieben gesund, während die zwei nur mit Bakterienkultur infizierten Meerschweinchen innerhalb 24 Std. starben und aus Peritonealexsudat und Herzblut Reinkulturen von Bakt. „W“ lieferten. 2 Meerschweinchen wurden mit je 1,0 ccm der gleichen Bouillon intraperitoneal infiziert, eines davon erhielt noch 1,0 ccm Immunserum. 2 Tage später bekamen beide Tiere noch einmal je 1,0 ccm Bouillonkultur intraperitoneal. Das Tier, dem auch Serum einverleibt worden war, blieb gesund, das andere starb innerhalb der nächsten 24 Std. mit dem gleichen Sektions- und Kulturbefund wie die früheren.

Zusammenstellung

der morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften des Bakt. „W“:

Kurzes, ovoides Stäbchen, schlanker als Bact. coli, oft in Diplostellung und in Ketten, beweglich, mit 1—4 monopolar angeordneten Geißeln, gramnegativ, Schleimhülle nachweisbar, hin und wieder auch Polfärbung.

Wachstum auf Agar und in Bouillon bei 30—47⁰ gut, bei Zimmertemperatur schlecht, bei pH 7,8—8,4 rasch, bei pH 6,6 schlecht, bei

pH unter 6,6 gar nicht, aerob gut, anaerob schlecht. Gelatine: Gutes Wachstum, langsame Verflüssigung vom 6. Tage an. Agar: z. T. runde, z. T. unregelmäßige, stark schleimige Kolonien. Löffler-Serum: Keine Verflüssigung. Blutagar: Keine Hämolyse. Dreifarbenagar und Endo-Platten: Erst typhusähnliches Wachstum, dann Färbung des Nährbodens. Kartoffel: Ueppiger, schleimiger Belag. Bouillon: Trübung und Kahmhaut. Traubenzuckerbouillon: Starke Gasbildung. Milch: Späte Gerinnung. Lackmusmolke: Keine Rötung. Peptonwasser: Keine Indolbildung.

Auf festen und flüssigen Nährböden sowie auf Gelatine tritt ein eigelber Farbstoff auf.

Die Tierpathogenität ist keine ausgesprochene. Wiederholt sind weiße Mäuse nach Verfütterung größerer Mengen zugrunde gegangen unter dem Bild einer leichten Gastroenteritis. Meerschweinchen und Ratten vertrugen Verfütterung anstandslos, ebenso Kaninchen die intravenöse Injektion. Meerschweinchen und Mäuse starben bei intraperitonealer Injektion größerer Bakterienmengen, während sie kleinere Dosen oder die subkutane Infektion gut ertrugen.

Ein durch Vorbehandlung eines Kaninchens gewonnenes Immunserum zeigte sowohl agglutinatorische Eigenschaften gegenüber dem Bakt. „W" wie auch schützende Kraft im Meerschweinchenversuch. Auch die Komplementbindungs-Reaktion fiel positiv aus.

Ueber den Krankheitsverlauf bei der Patientin W., Fabrikarbeiterin, geb. 1907, ist im wesentlichen folgendes zu berichten:

Familien- und frühere persönliche Anamnese ohne Belang, keine Tuberkulose. Jetzige Krankheit: Beginn am 5. 1. 1925 mit Angina, welche zwei Wochen dauerte. Nach weiteren 2 Wochen Wiedererkrankung mit masernähnlichem schmerzendem, zum Teil konfluierendem, rotfleckigem Ausschlag mit Blutungen aus Nasen- und Mundschleimhaut, Schwellungen der Halsdrüsen, eitriger Konjunktivitis und Keratitis, Dauer 4 Wochen. Dann 4 Wochen arbeitsfähig bis zu einem Rückfall mit heftigem Katarrh und hohem Fieber, exsudativer Pleuritis und Lungenaffektion mit reichlicher, grüngelber Expektoration. Ende Mai 1925 als lungentuberkulose-verdächtig nach Davos verbracht.

Die dort vorgenommene Untersuchung ergab einen entzündlich-infiltrierenden Prozeß in beiden Lungen mit Abszeßbildung; Tbc.-Bazillen nie nachweisbar, auch nicht im Tierversuch. Es bestand eine Leukozytose von 12700.

Der Krankheitsverlauf zeigte eine ausgesprochene septische Fieberkurve mit Temperatur bis 40°, Puls bis 140, starker Dyspnoë und zunehmender Herzinsuffizienz.

Eine in Davos und 2 am Hygiene-Institut der Universität Zürich angestellte Blutuntersuchungen ergaben jedesmal in Reinkultur gramnegative Stäbchen; die von uns gezüchteten Bakterien waren beidemal die gleichen und sind vorstehend beschrieben.

Exitus der Patientin W. am 14. 6. 1925 nach 5monatiger Krankheitsdauer unter zunehmender Dyspnoë und Herzinsuffizienz.

Die Sektion ermittelte eine lobuläre, abszedierende Unterlappen-Pneumonie und eitrige Bronchitis beider Lungen, subakuten Milztumor, Stauung und Verfettung der Leber.

Die nachträglich unter der Leitung von Herrn Dr. H. Vetter, Prosektor der Krankenanstalt Aarau, dem ich an dieser Stelle für seine Freundlichkeit danke, angestellte histologische Untersuchung bestätigte diesen Befund. Es konnte auch die starke Beteiligung der Blutgefäße der Lungen am Entzündungsprozeß und die vorwiegende Lokalisation

der Infiltrationen und Abszedierungen in der Nähe dieser Gefäße sowie die isolierte entzündlich-infiltrierende Affektion des Gefäßsystems der Leber nachgewiesen werden.

Ferner wurden in Lunge, Leber und Milz in den Gefäßen und in ihrer näheren Umgebung gramnegative kurze Stäbchen von ähnlicher Gestalt wie Bakt. „W" gefunden.

Leider wurde seinerzeit bei der Autopsie die Anlegung von Kulturen nicht vorgenommen.

Sektion und histologische Untersuchung bestätigen somit die klinische Diagnose: „Sepsis nach Angina, Lungenabszesse, Milztumor, Purpura septica" und weisen mit großer Wahrscheinlichkeit den hämatogenen Ursprung dieser Sepsis und ihre Verbreitung auf dem Blutweg sowie den sekundären Charakter der Lungenaffektion nach.

Diese Annahme erhält eine weitere Stütze durch den 3mal gelungenen Nachweis eines gramnegativen Stäbchens im kreisenden Blut der Patientin.

Dieser Nachweis wurde 2mal am Hygiene-Institut der Universität Zürich durchgeführt und ergab jedesmal das beschriebene Bakt. „W".

Ich glaube daher, dieses Bakt. „W" als den Erreger des vorliegenden Falles einer allgemeinen Blutinfektion mit tödlichem Ausgang bezeichnen zu dürfen.

Was nun die Frage über die Zugehörigkeit des Bakt. „W" zu einer bestimmten Bakteriengruppe und über seine systematische Einteilung anbetrifft, so ist zu sagen, daß ich in der mir zugänglichen Literatur keine Beschreibung eines Erregers finden konnte, mit dem sich das Bakt. „W" identifizieren ließe.

Am meisten Aehnlichkeit weist es auf mit dem von Fränkel und Pielsticker gefundenen „Bact. anthroposepticum", mit dem von v. Nestlinger gezüchteten „Bact. cholerae pestiforme" sowie mit einem von Geilinger beschriebenen Mikroorganismus.

Fränkel und Pielsticker (1) haben 1909 aus dem Blut eines an Sepsis mit vorausgegangener Osteomyelitis femoris verstorbenen Mannes ihr „Bact. anthroposepticum" gezüchtet, das mit dem Bakt. „W" in folgenden Punkten übereinstimmt: Kurze, feine, in älteren Kulturen längere, gramnegative bewegliche Stäbchen mit mehreren, quastenartig an einem Ende sitzenden Geißeln, Kolonien auf festen Nährböden ähnlich denen des Bakt. „W" mit gelbbrauner Farbstoffbildung, Gelatineverflüssigung nach 5—6 Tagen beginnend, Kartoffel, Traubenzucker- und Neutralrotagar und Milchzuckerbouillon gleich wie bei Bakt. „W".

Dagegen tritt auf Blutagarplatten Hämolyse ein, in Traubenzuckerbouillon wird wohl Säure, aber kein Gas gebildet. Milch koaguliert schon nach 24 Std. und Lackmusmolke rötet sich.

Außerordentlich deutlich zeigt sich der Unterschied auch im Tierversuch, wo Bact. anthroposepticum beim Kaninchen ein wohlumschriebenes Krankheitsbild erzeugt: Es entwickelt sich das klassische Bild der Pyämie mit regelmäßiger Bildung von multiplen, metastatischen Abszessen in den inneren Organen, Vereiterung der Nebenhoden und hämorrhagischer Entzündung des Hodenparenchyms. Zu diesem Bilde

gesellt sich stets eine lähmungsartige Schwäche der hinteren Extremitäten.

Die Autoren haben das Bact. anthroposepticum der Gruppe der Erreger der hämorrhagischen Septikämie zugeteilt.

v. Nestlinger (2) hat sein „Bact. cholerae pestiforme" zu der gleichen Gruppe der hämorrhagischen Septikämie eingereiht. Er züchtete es aus dem Stuhl eines unter dem Bild einer Cholera Verstorbenen schon zu Lebzeiten des Kranken. Dieser Erreger gleicht dem Bakt. „W" in morphologischer Beziehung, in der Form seiner Kolonien, seinem Wachstum auf Typhus-Spezialnährböden, auf Blutagar und in gewöhnlicher Bouillon.

In wesentlichen Punkten weicht es aber von ihm ab: Die Farbe der Kolonien ist weißlich-grau, die Verflüssigung der Gelatine beginnt schon nach 48 Stunden ohne Bildung eines gelben Farbstoffes, das Wachstum auf Kartoffel ist kümmerlich, Löffler-Serum wird verflüssigt, Traubenzuckerbouillon zeigt keine Gasbildung, Milch keine Gerinnung (nur während einer Woche kontrolliert) Lackmus ist in der ersten Woche rot, erst später blau. Bact. cholerae pestiforme ist streng aerob.

Die Tierversuche ergaben ähnliche, nicht eben charakteristische Resultate wie mit Bakt. „W".

1908 kam im Hygiene-Institut der Universität Zürich Eiter von einer Kopffurunkulose zur Untersuchung, die angeblich nach Streuen von Mäusegift entstanden war. In diesem Eiter fanden sich nach der Arbeit von Geilinger (3) neben Micrococcus pyogenes aureus und Bact. prodigiosum „eigenartige, paratyphusähnliche, Gelatine langsam verflüssigende Bazillen". Sie sind gramnegativ, beweglich, mit peritrichen Geißeln ausgerüstet, vergären Milchzucker nicht, dagegen Traubenzuckerbouillon, verhalten sich kulturell überhaupt wie Mäusetyphus und Paratyphus B mit der Ausnahme, daß sie nach 3 Wochen Gelatine langsam zu verflüssigen beginnen.

Wie aus dieser Beschreibung hervorgeht, weist der von Geilinger beschriebene Mikroorganismus eine gewisse Aehnlichkeit mit dem von uns untersuchten auf; die Abweichungen betr. Anordnung der Geißeln, mangelnde Farbstoffbildung, sehr langsame Gelatineverflüssigung etc. sind immerhin so weitgehend, daß von einer Identität nicht gesprochen werden kann.

Die drei hier kurz beschriebenen Bakterienbefunde haben eine große Aehnlichkeit mit dem unsrigen. Zumal, wenn wir die große Veränderlichkeit der Bakterien berücksichtigen, auf die namentlich in neuerer Zeit hingewiesen wird, bekommt das Vorhandensein einer Anzahl gemeinsamer Merkmale bei diesen seltenen menschenpathogenen Erregern eine erhöhte Bedeutung.

Ich begnüge mich aber einstweilen, hier lediglich den interessanten Fall mitzuteilen, ohne einen bestimmten Namen vorzuschlagen.

Zusammenfassung.

1) Aus dem Blute einer 18jährigen Patientin mit der klinischen Diagnose einer Sepsis wurde wiederholt der gleiche, hier Bakt. „W" genannte Mikroorganismus gezüchtet. — 2) Sektionsbefund und histologische Untersuchung wiesen mit großer Wahrscheinlichkeit den hä-

matogenen Ursprung dieser Sepsis und ihre Verbreitung auf dem Blutwege nach. — 3) Das Bakt. „W“ ist morphologisch und kulturell gut charakterisiert: Ein gramnegatives, ovoides Stäbchen, beweglich, mit monopolar angeordneten Geißeln, einer färbbaren Schleimhülle und gelegentlicher stärkerer Färbbarkeit der Bakterienenden. Als wichtige kulturelle Merkmale seien erwähnt die langsame Verflüssigung der Gelatine, die kräftige Schleimwallbildung auf Agar, auf Blutagar keine Hämolyse, auf Rinderserum keine Verflüssigung. Die Bouillon wird stark getrübt unter Bildung einer Kahmhaut, in Traubenzuckerbouillon entwickelt sich Gas, nicht aber in Milchzuckerbouillon. Milch wird langsam zur Gerinnung gebracht, Lackmusmolke nicht gerötet. Auf allen Nährböden entsteht ein eigelber Farbstoff. Das Wachstum ist auf allen gebräuchlichen Nährböden bei alkalischer Reaktion und bei Bruttemperatur gut, besser aerob als anaerob. Die Tierpathogenität ist nicht stark ausgesprochen. Nur bei Verfütterung an weiße Mäuse starben sämtliche Tiere, hingegen waren Meerschweinchen und Ratten gegen die Infektion per os unempfindlich. Bei intraperitonealer Injektion von großen Bakterienmengen gingen Meerschweinchen und weiße Mäuse zugrunde, kleinere Mengen und subkutane Einverleibung ertrugen sie beschwerdelos. Kaninchen und Ratten zeigten nach intravenöser Injektion keine Krankheitserscheinungen. — 4) In der Literatur konnte keine Beschreibung eines gleichen Bakteriums gefunden werden. Immerhin wurde von Fränkel und Pielsticker, von v. Nestlinger und von Geilinger über drei menschenpathogene Mikroorganismen berichtet, die mit dem Bakt. „W“ eine gewisse Aehnlichkeit aufweisen. Von der Einreihung des Bakt. „W“ zu einer bestimmten Bakteriengruppe wird einstweilen Abstand genommen; es sollen zuerst weitere ähnliche Befunde abgewartet werden.

Literatur.

1) Fränkel, E., und Pielsticker, F., Ueber ein bisher unbekanntes, menschenpathogenes Bacterium anthroposepticum. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 68. 1911.) — 2) v. Nestlinger, Ueber einen neuen menschenpathogenen Erreger — Bact. cholerae pestiforme. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919.) — 3) Geilinger, H., Ueber einen eigenartigen, paratyphusähnlichen, Gelatine langsam verflüssigenden Bazillus bei einer Furunculosis nach fraglicher Infektion mit Löfflerschem Mäusetyphus. (Ebenda. Bd. 50. 1909.) — 4) Hutyra, Septicaemia haemorrhagica in Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 6. 1913. — 5) Busson, Die Erreger der hämorrhagischen Septikämie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921.)

Experimentelle Nephritis und Hepatitis durch Trypanosoma Brucei.

Von Prof. Dr. **Mario Battaglia,**
Privatdozenten an der Kgl. Universität Neapel.

Bei meinen jahrelangen Versuchen mit verschiedenen Trypanosomaarten (Tryp. vespertilionis, Tryp. Lewisi, Tryp. gambiense, Nagana-Tryp., Tryp. dromedarii) habe ich bei den Tierpassagen keine konstante Virulenz beobachten können. Die Virulenz dieser einzelnen Trypanosomen zeigte sich nämlich veränderlich, schien bald zuzunehmen, bald sich abzuschwächen, um alsbald wieder zur gewöhnlichen zu werden. Auch habe ich, soweit es sich ohne Veränderung der Lebensbedingungen des Mikroparasiten tun ließ, nicht bestimmen können, welchen Einfluß Größe, Art oder Konstitution des Versuchssäugetieres auf den Gang der Virulenzkurve des betreffenden Trypanosomas haben mag. Jedoch konnte ich feststellen: 1) daß die Trypanosomen der von mir untersuchten Säugetiere für Reptilien und Vögel, wie sie gewöhnlich in biologischen Laboratorien verwendet werden, unschädlich sind, und im kreisenden Blut nur ganz kurze Zeit gleich nach der subkutanen oder intravenösen Einimpfung weniger Tropfen trypanosomenhaltigen Blutes auftreten; 2) daß sich die Trypanosomen bei Verimpfung von Tier auf Tier mehrere Jahre hindurch (bei einigen Trypanosomen 1904—1910, bei anderen 1908—1912, in welchen Jahren ich diese Versuche anstellte) stets als pathogen erweisen; 3) daß das Tryp. Brucei (Nagana-Tryp.) bei Verimpfung auf Kaninchen eine ausgeprägte Virulenz erlangt, da ich feststellen konnte, daß nach mehreren Kaninchenpassagen, wobei stets von Kaninchen auf Kaninchen verimpft wurde, dieses Tier nach 1 oder 2 Tagen verendete. Im kreisenden Blut fanden sich dabei seltene plumpe Formen des Nagana-Tryp. und eine erhebliche Lipämie; daneben bestand Nephritis und hyperakute Hepatitis. Dagegen wurde bei den ersten Kaninchen der Reihe und den anderen Tieren eine nicht so starke Nephritis und Hepatitis mit nicht so zerstörenden Eigenschaften beobachtet. Bei Untersuchung der übrigen Organe fanden sich auch hier die gewöhnlichen von mir beschriebenen Läsionen (1). Bei der Sektion dieser Kaninchen wurde beobachtet:

Niere. Die Niere ist von normaler Größe, von rosig-weißlicher Farbe, weich, anämisch. Beim Schnitt zeigt sich keinerlei Unterschied zwischen Rinden- und Marksubstanz, denn beide sind anämisch und undeutlich. An den mikroskopischen Schnitten in frischem Zustand zeigen sich die Zellen und das ganze Gefüge des Schnittes voll von doppelbrechenden Tröpfchen; die Grenzen der Epithelzellen sind besonders in den gewundenen Kanälchen, aber auch in der ganzen Substantia tubularis undeutlich, und in den Zellen ist kein Kern oder sonstiges differenziertes Element wahrzunehmen; die Bowmansche Kapsel ist voll von doppelbrechendem amorphen Detritus. An den auf verschiedene Weise gefärbten und mit verschiedenen Flüssigkeiten fixierten Präparaten sieht man eine ausgeprägte fettige Entartung mit Plasmo- und Nukleolyse und Abschilferung aller Epithelzellen von der

Bowmanschen Kapsel zu den Tubuli recti, und das ganze Nierengewebe zeigt sich pyknotisch. Auch hyaline Entartung der Gefäßwände mit Körpercheninfiltration der perivaskulären Scheide ist zu beobachten. Kurz und gut, es bestehen Merkmale einer hyperakuten Nephritis mit vollständiger Zerstörung der ganzen Nierensubstanz, und man kann eher von einer totalen Nierennekrose als von Nephrose sprechen.

Leber. Die normalgroße, blaßrosafarbene Leber ist von so weicher Konsistenz, daß sie leicht zergeht. An den mikroskopischen Schnitten im frischen Zustand zeigen sich die Acini untereinander verschwommen, von mit Fetttröpfchen angefüllten Blutgefäßen begrenzt; die Leberzellen sind mit diesen doppelbrechenden Tröpfchen vollgepfropft. In den Zellen wurde auch bei größter Abblendung kein sonstiges differenziertes Element inmitten dieser Granula beobachtet, und auch ihr Umriß war unbestimmt. An den auf verschiedene Weise fixierten und gefärbten Präparaten sah man einen starken und diffusen lipoidalen Zerfall mit einem ausgeprägten Zustand totaler Pyknose; eine diffuse fettige Entartung mit Plasmo- und Nukleolyse, eine wahre akute Zellnekrose.

Neapel, Januar 1926.

Literatur.

1) Nefrite sperimentale da Trypanosoma vespertilionis. (Ann. di medic. navale e coloniale. Anno 13. Vol. 1. 1907. Fasc. 5.) — 2) Epatite da Trypanosomiasi sperimentale. (Ann. di medic. navale e coloniale. (Anno 14. Vol. 2. 1908. Fasc. 1.) — 3) Hepatitis bei experimenteller Trypanosomiasis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. Heft 4.) — 4) Einige anatomo-pathologische Läsionen bei der Nagana. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. Heft 3.) — 5) Einige durch Trypanosomiasis dromedari erzeugte Läsionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. Heft 2/3.) — 6) Histologische Veränderungen in den Organen an experimenteller Trypanosomiasis verendeter Tiere. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1921. Heft 5.)

Ueber die ätiologische Bedeutung der „Enterokokken“ bei Blasen-Nierenerkrankungen und über die Beziehungen der „Enterokokken“ zu den Milchsäurestreptokokken.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. Korff-Petersen).]

Von Dr. med. et phil. **M. Gundel.**

Die Franzosen (und von ihnen besonders Thiercelin) haben einem Mikroorganismus, der von Th. Escherich als „Micrococcus ovalis“ bezeichnet wurde, die Artbezeichnung „Enterococcus“ beigelegt. Sie sprechen diesem Bakterium eine recht bedeutsame Rolle in der Aetiologie vieler Erkrankungen des Darmkanals und bei einer großen Reihe anderer Erkrankungen zu. In der deutschen Literatur ist, mit Ausnahme der Arbeiten von Schmitz (2, 3) und in neuester Zeit der Arbeit von Meyer (4), dieser Mikroorganismus gänzlich unberücksichtigt geblieben. Schmitz (2), der als ausgezeichneter Kenner der

französischen Literatur über dieses Gebiet die wichtigsten französischen Arbeiten in seiner Abhandlung referiert, sagt, „daß den französischen Forschern übereinstimmend der Enterococcus als eine besondere Bakterienart gilt und als solche in ihren Lehrbüchern besonders beschrieben wird".

Im Verfolg von Untersuchungen über das Vorkommen von Milchsäurestreptokokken in Urinen, habe ich nun über 200 Urine auf das Vorkommen von „Enterokokken" untersucht, und dabei schien mir eine außerordentlich enge Verwandtschaft der „Enterokokken" mit den Milchsäurestreptokokken vorzuliegen. Nach dem morphologischen Bild möchte man fast von einer Identität sprechen. In dem kulturellen Verhalten der Bakterien auf Blut- und Milchzuckeragar machen sich jedoch den Milchsäurestreptokokken gegenüber gewisse Unterschiede geltend.

Bitter und Buchholz (5) haben folgende Einteilung der Milchsäurestreptokokken in 3 bzw. 4 Typen angegeben, deren Berechtigung ich auch auf Grund eigener, unveröffentlicht gebliebener Untersuchungen durchaus bestätigen kann:

„Typ. I: Ziegenblutagar (1:10): große, weiße, kuppelförmige, saftige, staphylokokkenartige Kolonien mit schwärzlicher Verfärbung. Chinablauagar: klein, spitz, saftig, hellblau.

Typ. II: Ziegenblutagar: kleinere bis größere Kolonien, mit starker Vergrünung und Aufhellung. Kolonie an sich mehr oder minder weiß.

Typ. IIa: Chinablauagar: kleine, spitze, tiefblaue, festhaftende Kolonien.

Typ. IIb: Chinablauagar: kuppelförmige, tiefblaue, festhaftende Kolonien.

Typ. III: Ziegenblutagar: große, runde, tröpfchenartige Kolonien mit ausgesprochener Vergrünung und Aufhellung. Chinablauagar: große, runde, schleimige, tiefblaue Kolonien."

Während man nach meinen Untersuchungen (1) in der überwiegenden Zahl der Fälle in der Mundhöhle bei gesunden und kranken Menschen den Typ IIa der Milchsäurestreptokokken findet, beobachtete ich ihn in Urinen in dieser pneumokokkenähnlichen Form nur außerordentlich selten. Der daraus gezüchtete Milchsäurestreptokokkus nimmt vielmehr eine Zwischenstellung ein: er ist im allgemeinen ausgezeichnet durch ein etwas üppigeres Wachstum auf der Blutagarplatte gegenüber dem Typ II, dabei aber nicht so groß und saftig wie die staphylokokkenähnlichen Vertreter des Typ. I, während er auf der Chinablauagarplatte nicht ganz einheitlich wächst; zuweilen findet man hier spitze tiefblaue, manchmal auch etwas flachere tiefblaue Kolonien, die oft durch ein erhebliches Weiterwachsen bei über 24 Std. hinaus währender Bebrütung charakterisiert sind. Es fragt sich danach, ob es sich bei den „Enterokokken" um eine selbständige Art nach Ansicht der Franzosen oder um ein den Milchsäurestreptokokken sehr nahe verwandtes oder mit ihnen identisches Bakterium handelt.

Beschäftigen wir uns zunächst mit der Biologie, dem biochemischen Verhalten und der Morphologie dieser Keime.

In der Literatur bestehen über die Wachstumsverhältnisse der „Enterokokken" beträchtliche Meinungsverschiedenheiten. Schmitz (2) sagt z. B. p. 55: „Auf Blutagar gedeiht er üppig als durchsichtige, schleimige, leicht zusammenfließende, manchmal fadenziehende Masse". Hiernach wäre eine Differenzierung gegenüber den Pneumokokken sehr einfach. Dahingegen meint K. Meyer (4): „Auf der Blutagarplatte bildet er meist zarte, infolge Methämoglobinbildung schwarzgrüne Kolonien, die sich nicht mit Sicherheit von denen der Pneumokokken unterscheiden lassen." Nach meinen Erfahrungen treffen für die aus Urinen

gezüchteten Stämme beide Beschreibungen nur in einem kleinen Teil der Fälle zu. Im allgemeinen wachsen die „Enterokokken“ auf Blutagar als kleine bis mittelgroße schwärzliche Kolonien mit weißlichem Zentrum unter wechselnd starker Vergrünung (bei durchfallendem Lichte) des Nährsubstrats, seltener als weißliche staphylokokkenartige Kolonien mit ziemlich starker Verschwärzung des Blutagars. Es will nach dem kulturellen Bild so scheinen, als ob es sich bei den „Enterokokken“ in Urinen um Milchsäurestreptokokken handelt, die sich durch den Aufenthalt in diesem Medium in der beschriebenen Richtung verändert haben. Daß es sich um Milchsäurestreptokokken handelt, die nur durch den Einfluß der Umgebung — was ja bei der beträchtlichen Variabilitätsbreite dieser Keime nicht zu verwundern ist — kulturell sich von den Milchsäurestreptokokken aus der Mundhöhle unterscheiden, dafür sprechen des weiteren noch die folgenden Beobachtungen:

Der Mikroorganismus tritt in Bestätigung der Befunde von Schmitz und K. Meyer als grampositiver Diplococcus von Kerzflammenform auf. „Vorzugsweise zeigt er diese Gestalt im menschlichen Organismus, aber auch in der Kultur, besonders auf flüssigen Nährböden, bleibt sie in der Regel erhalten.“ Er bildet im allgemeinen im menschlichen und tierischen Organismus im Gegensatz zu den Angaben der französischen Literatur und in Uebereinstimmung mit denen von K. Meyer keine Kapseln. Auf einen Sonderfall werde ich bei der ausführlichen Besprechung der Untersuchungsergebnisse bei dem Kind Sch. zu sprechen kommen. Neben dem Vorkommen der Kerzenflammenform muß aber die große Polymorphie hervorgehoben werden. Gerade das häufige Auftreten von runden neben Lanzettformen zu 2 oder in kurzen Ketten usw. spricht für die Identität des „Enterokokkus“ mit den Milchsäurestreptokokken. Ebenso wie die Milchsäurestreptokokken zeigt dieser Keim das starke Säurebildungsvermögen aus Milchzucker schon nach 24 Std., wie ich es nur bei den Staphylokokken (6) und Milchsäurestreptokokken (1) gefunden habe. Pneumokokken hingegen säuern kaum. Eine Verflüssigung der Gelatine konnte wie auch bei den Pneumokokken und Milchsäurestreptokokken in keinem Fall beobachtet werden. Schmitz (2) betont, daß von den „Enterokokken“ die Milch nicht zur Gerinnung gebracht wird. Wie bei den Milchsäurestreptokokken zeigt jedoch ein Teil meiner Stämme (siehe auch die Tabelle) das Vermögen, Milch zur Gerinnung zu bringen. Uebrigens hat auch Olinescu (7) einen „Enterokokkus“ gefunden, der „coagule le lait au bout de trois jours“.

In der Bouillon wächst der „Enterokokkus“ unter gleichmäßiger Trübung der ganzen Flüssigkeitssäule; das Wachstum ist aber in den allermeisten Fällen intensiver als das der Pneumokokken. Während sich die 1proz. Milchzuckerbouillon (5,1) uns als ausgezeichnetes Hilfsmittel zur Unterscheidung von Milchsäurestreptokokken und Pneumokokken erwiesen hat (die Milchsäurestreptokokken wachsen unter starker Trübung und Bildung eines relativ starken Bodensatzes, die Pneumokokken trüben das Substrat garnicht oder nur sehr wenig), ist für die aus dem Urin gezüchteten Keime diese Unterscheidungsmethode nicht ganz so vorzüglich. Im allgemeinen wachsen sie nämlich in der 1proz. Milchzuckerbouillon ähnlich wie in der Bouillon: die Bildung eines hohen Bodensatzes stellt eine Ausnahme dar. Immerhin unterscheidet sich aber auch in diesem Substrat ihr Wachstum durch die stärkere Trübung von dem der Pneumokokken erheblich.

Tabelle.

Stamm	Patient	Typ
1	Schl., m., 4 J. Pyurie, Nephritis, Diphtherie, 40,6°	weißl. m. schwarz. Rand, kleine blaue Diplostrepto- und Lanzettkokken. Typ I—IIa. E 5490/1925
2	D., w., 1/2 J. Pyelitis, nähere Angaben nicht erhalten	s. Fall 1. E 5589/1925
3	F., m., 5 J. Zuerst Angina m. hohem Fieber, 40°, dann schwere Pyelitis	s. Fall 1. Pleomorphe Diplostreptokokken in kurzen Ketten und Lanzettformen. E 5148/1925
4	L. J., w., 23 J. Zuerst Fieber und katarrhal. Lungenerscheinung., dann chron. Pyelocystitis	weißl. mit schwarzem Rand und Vergrünung, kleine blaue kuppelförmige Diplolanzettkokken, zuweilen in kürzeren Ketten m. einzeln. rund. Form.
5	H. J., m., 12 J. Nephritis, 37—39°, nähere Angaben nicht zu erhalten.	s. Fall 1. Nur Lanzettkokken. E 5508/1925
6	M. J., w., 57 J. Arteriosklerose	s. Fall 1. E 245/1926
7	T., w., 34 J. Pyelitis.	s. Fall 1. E 253/1926
8	H., m., 7 J. Akute Angina	Typ 1. E 5016/1025
9	H. St., m., 3 J. Bronchitis, Angina (?), Cystopyelitis	s. Fall 1. E 4840/1925
10	M. H., w., 36 J. Aszites	Typ IIa. E 428/1926
11	G. Sch., w., 11 Mon. Cystopyelitis, Rachitis	Typ I und IIa
12	A. O., w., 1 1/2 J. Akute Angina, Cystitis	Typ I. Lanzettkokken. E 5009/1026.
13	W., w., 26 J. Cystitis, keine näheren Angaben erhalten	Typ I. E 555/1926
14	E. D., w. Cystopyelitis, keine näheren Angaben erhalten	Typ I. E 4600/1925
15	Sch., w., 22 J. Angina, dann leichte Cystitis	Typ I
16	R., w., 24 J. Cystitis	s. Fall I. E 4768/1925
17	L., m., 5 J. Bronchitis, dann Cystitis	Typ I. 4 Krankheitstage. E 4667/1925
18	M. St., w., 7 1/2 Mon. Otitis media nach Bronchopneumonie	Typ IIa
19	E. C., w., 3 J. Bronchopneumonie	Typ IIa
20	H. S., m., 74 J. Prostatahypertrophie	Typ I
21	H. H., m., 17 J. Zunächst starke Erkältung mit hohem Fieber, dann eitrige Mediastinitis	Typ IIa
22	O. L., m., 1 1/2 J. Pneumonie.	s. Fall 4

Angaben über die Pathogenität der „Enterokokken“ den gebräuchlichen Versuchstieren gegenüber liegen von deutschen Autoren nur von Schmitz (2) vor, der 3 Enterokokkenstämme an weiße Mäuse verimpfte, die jedoch sämtlich am Leben blieben. Nach meinen Untersuchungen, die in der vorstehenden Tabelle zusammengefaßt sind, ist aber ein ziemlich hoher Prozentsatz der gezüchteten „Enterokokken-

Tabelle.

Maus	Milchzuckerbouillon Ausgangs-P_H 7,0–2,7	Gerinnungsvermögen in der Milch	Verflüssigungsvermögen in der Gelatine
lebt	gering, trübe. P_H 4,86 (daneben B. coli comm. in gleichen Mengen)	—	—
lebt	gering, trübe. P_H 5,12 (daneben B. coli comm. zahlreich)	—	—
lebt	trübe, geringer Bodensatz. P_H 5,12 (daneben B. coli comm. spärlich)	+ 24 Std.	—
lebt	trübe, geringer Bodensatz. P_H 4,89	—	—
tot	gering trübe, geringer Bodensatz. P_H 4,98 (daneben B. coli comm. spärlich)	—	—
lebt	gering, trübe, geringer Bodensatz. P_H 4,86	—	—
lebt	s. Fall 6. P_H 4,68 (daneben mäßig viel B. coli comm.)	—	—
tot	20 mm Bodensatz, stark trübe. P_H 4,77	+ 24—36 Std.	—
tot	sehr stark trübe. P_H 5,70—5,80	—	—
lebt	30 mm Bodensatz, stark trübe. P_H 4,68	+ 24 Std.	—
Pathogen. wechselnd	trübe, mit wechselnder Höhe des Bodensatzes. P_H 4,58–4,95	—	—
tot	20 mm Bodensatz, sehr stark trübe. P_H 4,91	+ 24 Std.	—
lebt	stark trübe (daneben B coli comm. spärlich).	—	—
lebt	stark trübe. P_H 4,70 (daneben Staph. albus spärlich)	—	—
lebt	40 mm Bodensatz, stark trübe. P_H 4,47	+ 40 Std.	—
lebt	45 mm Bodensatz, gering trübe. P_H 4,73 (daneben einzelne B. coli comm.)	—	—
lebt	37 mm Bodensatz, gering trübe. P_H 4,83	—	—
lebt	stark trübe. P_H 4,85. (daneben einige B. coli comm.)	—	—
lebt	stark trübe. P_H 4,68	—	—
tot	stark trübe. P_H 4,86 (daneben B. coli comm.)	—	—
tot	stark trübe. P_H 4,59	—	—
tot	stark trübe. P_H 4,42	+	—

stämme“ hochpathogen für die weiße Maus, während ein anderer Teil apathogen ist. Beziehungen zwischen dem morphologischen und kulturellen sowie biochemischen Verhalten und der Pathogenität sind nicht aufzufinden gewesen. In Bestätigung der Befunde von K. Meyer erwiesen sich sämtliche von mir untersuchten Enterokokkenstämme als optochinunempfindlich und galleunlöslich.

Wir haben damit in den vorstehenden Ausführungen gesehen, daß zwischen Milchsäurestreptokokken und „Enterokokken“ außerordentlich enge Beziehungen bestehen. Man ist zweifellos geneigt, von einer Identität der beiden zu sprechen, auch wenn man das Vorkommen für Mäuse hochpathogener Bakterienstämme berücksichtigt, denn auch bei den aus der Mundhöhle Gesunder gezüchteten Milchsäurestreptokokken können erhebliche Schwankungen in der Virulenz auftreten. Schon Brüning (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 62. 1905) hat unter 40 Milchsäurestreptokokken einmal einen für Mäuse pathogenen Stamm gefunden und auch Heinemann (zitiert nach Schmitz) sah nach wiederholter Tierpassage (Kaninchen) eine ausgesprochene Pathogenität. Auch ich beobachtete bei früheren Untersuchungen (1) erhebliche Schwankungen Wenn berücksichtigt wird, daß die kulturellen Unterschiede bei gleichem morphologischen Verhalten nur gering sind, so sieht man nicht ein, warum man eigentlich den Bakterien einen Spezialnamen „Enterokokken“ beilegen muß.

Auf Grund dieser Befunde möchten wir es als sehr wahrscheinlich bezeichnen, daß es sich bei den „Enterokokken“ um Milchsäurestreptokokken handelt, deren kulturelles Verhalten durch den Standortwechsel sich etwas verändert hat. Als Beweis für die Berechtigung dieser Annahme seien die folgenden Versuchsergebnisse kurz besprochen: Sät man, wie ich es mehrfach getan habe, einen Vertreter des Typs IIb der Milchsäurestreptokokken in Urin ein, dann kann man ungefähr vom 3. Tag an beobachten, wie der bis dahin auf Milchzuckeragar tautropfenartig wachsende Stamm dieses üppige hohe Wachstum verliert und flacher wächst, bis er nach etwa 8 Tagen auch durch üppigeres Wachstum auf Blutagar kaum mehr von einem Typ I zu unterscheiden ist. Aber auch im Darmkanal verändern sich die aus der Mundhöhle stammenden Milchsäurestreptokokken des Typs IIb (als des am wenigsten sich normalerweise verändernden Typs) sehr schnell. Bei Fütterungsversuchen mit diesen Bakterien konnten wir aus Stuhl oder Darm der Versuchstiere (weiße Mäuse) in keinem Fall den Typ IIb wieder herauszüchten, vielmehr handelte es sich, ähnlich wie bei den Urinversuchen, immer um Bakterien, die zwischen dem Typ IIa und I stehen.

Die meisten der im folgenden Teil ausführlicher beschriebenen Fälle, bei denen unseres Erachtens die Beziehung der aus dem Urin gezüchteten Stämme zu denen der Mundhöhle recht wahrscheinlich gemacht ist, sprechen meines Erachtens dafür, daß nicht immer die „Enterokokken“ aus dem Darm zu stammen brauchen. Aus den Krankengeschichten geht hervor, daß mit Ausnahme des Falles 11 katarrhalische Erscheinungen seitens des Nasen-Rachenraumes bzw. der Lungen oder eine Angina der Zystitis oder Zystopyelitis vorangegangen waren. Man ist aus diesem Grunde gezwungen, die Infektion des uropoëtischen Systems für diese Fälle zurückzuführen auf die voraufgegangenen Erkrankungen des Respirationstraktus, bei denen die Bakterien in die Blutbahn übertreten und dann in der Blase oder im Nierenbecken als Krankheitserreger wieder auftreten können. In einem hohen Prozentsatz dieser Fälle und auch der in der Tabelle kurz zusammengefaßten, zeigen dann die Tierversuche eine hohe Virulenz der Stämme für weiße Mäuse. Durch das Entgegenkommen des Oberarztes der Universitäts-Kinderklinik, Herrn Dr. Rupprecht, konnten bis jetzt in 4 Fällen von Bronchopneumonien die Urine untersucht werden und in 3 (Fall 18, 19 u. 22 der Tabelle) „Enterokokken“ (2mal in Reinkultur)

herausgezüchtet werden, ohne daß Krankheitserscheinungen seitens der Blase oder des Nierenbeckens vorlagen. Untersuchungen des Respirationstraktus auf diese Keime konnten leider nicht durchgeführt werden; immerhin sind auch diese Fälle geeignet, für unsere Beweisführung herangezogen zu werden, da die Keime mit größter Wahrscheinlichkeit aus den Luftwegen stammen. Wir werden diese Frage weiter verfolgen. — Damit soll nun nicht gesagt werden, daß gelegentlich nicht auch hämatogen eine Infektion der Nierenwege vom Darm aus mit diesen Keimen erfolgen kann. In vielen unserer Fälle ist aber das Zusammentreffen der Krankheitsprozesse im Respirationstraktus mit denen der Niere und Blase zu auffallend, als daß man es mit Zufälligkeiten erklären könnte.

Zum Schluß möchte ich jetzt unter Betrachtung einiger, mir besonders wichtig erscheinender Krankheitsfälle die klinische Bedeutung der „Enterokokken" bei ihrem Vorkommen im uropoëtischen System hervorheben.

Fall 4: 23jährige Frau erkrankte im Dezember 1924 mit Fieber, Harndrang und Schmerzen beim Urinieren. Urin trübe, enthielt Blut, reichlich Leukozyten und Bakterien. Außerdem waren katarrhalische Lungenerscheinungen vorhanden. Nach Zystitis-Behandlung schwanden die Leukozyten, die Bakterien nicht ganz. Ende Mai 1925 5 Wochen Bad Brückenau (Trinkkur usw.). Nach Bericht des dortigen Arztes ergab die Cystoskopie außer einer geringen Injektion am Blasenfundus gutes Aussehen der Blasenschleimhaut, beide Ureteren sonderten klaren Harn ab. Die Zahl der Leukozyten war bis auf ganz vereinzelte zurückgegangen, jedoch war ein völliges Verschwinden der Bakterien nicht zu erreichen. Wegen dauernder leicht erhöhter Temperatur und vorübergehend leichten Harnbeschwerden Herbst und Winter 1925/26 noch Blasenspülungen mit arg. nitr. und November 1925 Einspritzungen mit Autovaccine. Auch danach fanden sich immer noch einzelne „Milchsäurestreptokokken" im Urin. Das Befinden aber seitdem bedeutend gebessert.

Als Erreger dieser chronischen Zystopyelitis haben wir einwandfrei Diplolanzettkokken gefunden, die zuweilen auch in kürzeren Ketten mit einzelnen runden Formen nachgewiesen werden konnten. Sie wuchsen auf Blutagar als mittelgroße, weißliche Kolonien mit schwarzem Rand und Vergrünung des Nährsubstrats und auf Chinablauagar als kleine, blaue, kuppelförmige. In vielen Tierversuchen mit Stämmen, die im November 1925 und Januar 1926 isoliert worden waren, erwiesen sich diese regelmäßig als avirulent! Der im Beginn der Erkrankung gezüchtete Stamme wurde leider nicht näher geprüft. Es muß dahin gestellt bleiben, ob er damals wegen der gleichzeitig vorhanden gewesenen katarrhalischen Lungenerscheinungen virulent gewesen ist (s. d. folg. Fälle).

Fall 8: Es handelt sich um einen 7jährigen Knaben, der an einer akuten Angina (40,2°) erkrankt war, die in 2—3 Tagen unter Entfieberung abheilte. Der Urin war am ersten Tag eiweißhaltig und im Sediment fanden sich Bakterien (nur Lanzettkokken!).

Der gezüchtete Stamm, morphologisch nur aus Diplolanzettkokken bestehend, gehörte dem Typ I an, verhielt sich in der 1proz. Milchzuckerbouillon wie ein Milchsäurestreptokokkus (hoher Bodensatz, starke Trübung, Säuerung von p_H 7,05 bis 4,77 in 15 Std.), brachte die Milch nach 24—36 Std. zur Gerinnung und verflüssigte die Gelatine nicht. Für weiße Mäuse war der Stamm hochpathogen: er tötete die Versuchstiere in Dosen von 0,5 ccm—0,01 ccm in 15—20 Std. unter den Erscheinungen einer Sepsis, ließ dabei aber Kapselbildungsvermögen,

Optochinempfindlichkeit und Gallelöslichkeit vermissen. Auch bei Fortzüchtung des Stammes sowohl in Milchzuckerbouillon als auch auf Blutagar blieb seine Pathogenität erhalten, ebenso blieb sein kulturelles morphologisches Verhalten das gleiche. Nach 40tägiger Versuchsdauer ging der Stamm plötzlich ein.

Fall 9: Das 3jährige Kind Hermann St. erkrankte mit katarrhalischen Erscheinungen von Seiten des Nasen-Rachenraumes. Ueber den Lungen diffuse Bronchitis mit Auftreten kleiner Verdichtungsherde in beiden Oberlappen, die jeweils nur einige Tage bestanden. Fieber zwischen 39 und 41°. Kind war apathisch, klagte zeitweilig über Schmerzen beim Wasserlassen und einen gewissen Dauerschmerz im Unterleib, den man auf die Harnblase beziehen mußte. Albumengehalt anfangs ziemlich hoch, ging jedoch bald zurück. Trotz des wohl 4—5 Wochen langen Fiebers Kräftezustand leidlich, Zunge feucht. Puls der Temperatur entsprechend beschleunigt, leidlich kräftig. Lytische Entfieberung. Diagnose wechselte mehrfach. Anfänglich bot sich mehr das Bild einer Influenza, dann ist an Miliartuberkulose und Typhus gedacht worden. Die Schlußdiagnose war Cystopyelitis.

Die aus dem Urin des Kindes in Reinkultur gezüchteten Bakterien nahmen eine Zwischenstellung zwischen dem Typ I und IIa der Milchsäurestreptokokken ein. Sie waren wie die des Falles 8 für weiße Mäuse in gleichen Dosen hochpathogen und wuchsen in der Milchzuckerbouillon unter starker Trübung ohne wesentlichen Bodensatz bei stärkerer Säuerung des Nährsubstrats (pH 5,70 bis 5,80).

Fall 11: 11 Monate altes Kind Gerda Sch. in der Universitätskinderklinik wegen Pyelitis mit hoher Temperatur und Erbrechen aufgenommen. Im Urin massenhaft Leukozyten, rote Blutkörperchen und Bakterien. In etwa 8 Tagen Entfieberung. Dann zunehmende Besserung des Allgemeinbefindens. Im Urin in abnehmender Menge weiße und rote Blutkörperchen. 4 Wochen später treten im Urin wieder massenhaft rote auf, daneben einige weiße. Nach 10—14 Tagen nehmen die roten wieder ab, ohne aber vollständig zu verschwinden. Während dieser ganzen Zeit im allgemeinen gutes Gedeihen, aber doch häufig leichte Temperatursteigerungen. Für Barlow keine Anhaltspunkte. Es handelte sich wohl um die Folgen der Pyelitis. Außerdem bestand bei dem Kinde eine floride Rachitis.

Im Urin des Kindes wurde bei der ersten Untersuchung der folgende Befund erhoben: neben einzelnen Bact. coli commune fanden sich viele weißliche Kolonien mit schwarzem Rand und geringer Vergrünung auf Blutagar sowie kleine schwärzliche Kolonien, die beide auf Chinablauagar als kleine tieffblaue kokkenartige Kolonien wuchsen: also Vertreter des Typs I und IIa der Milchsäurestreptokokken. Beide Typen verhielten sich bei der weiteren Prüfung gleich. Es handelte sich morphologisch um Diplostrepto- bzw. Diplolanzettkokken ohne Kapseln, die optochinunempfindlich und galleunlöslich waren. In der ersten Kultur in Milchzuckerbouillon säuerten sie nur ganz gering, in allen weiteren wie typische Milchsäurestreptokokken (von pH 7,4 bis pH 4,95 bis pH 4,84). Von der ersten Blutkultur wurde eine weiße Maus mit 0,2 ccm intraperitoneal gespritzt, die nach 15 Std. an einer Sepsis einging. Aus allen Organen und Herzblut ließ sich der Stamm heranzüchten, dessen morphologisches Verhalten jetzt aber durch das Auftreten von Kapseln charakterisiert war. Der Tierversuch, der aus der zweiten Milchzuckerbouillonkultur angestellt wurde, verlief negativ. Mit Zunahme der Zahl der Uebertragungen wurde das Wachstum in der Milchzuckerbouillon immer üppiger. Alle weiteren Tierversuche aus der Milchzuckerbouillon verliefen gleichfalls negativ. Bei Fortzüchtung des aus der ersten gestorbenen Maus gewonnenen Stammes zeigte sich bald, daß auch seine Pathogenität wie bei dem Originalstamm schnell ab-

nahm. Bereits in der zweiten Milchzuckerbouillonpassage war er auch in den größten Dosen avirulent geworden, ebenso wie in der fünften Blutagarpassage. Das Säurebildungsvermögen nahm immer mehr zu, so daß er eine 1proz. Milchzuckerbouillon nach 15 Std. von pH 7,21 auf pH 4,61 säuern konnte.

Die 2. Probe wurde 8 Tage später untersucht, hier fanden sich die Diplostrepto- und Lanzettkokken in Reinkultur. Der Stamm war auf Blutagar über sechs Passagen für weiße Mäuse hochvirulent ohne Kapselbildung, aber bereits nach der ersten Milchzuckerbouillonpassage avirulent, selbst wenn wir aus Milchzuckerbouillon auf Blut überimpften und dann ein Tier spritzten. Es ist also bereits eine deutliche Abnahme in der Virulenz festzustellen.

Eine 3. Probe mit positivem Untersuchungsbefund erhielten wir 14 Tage später. Auch hier fanden sich die Bakterien in Reinkultur, waren aber auch in den größten Dosen — sowohl von Blutagar als auch aus der Milchzuckerbouillon — avirulent. Die Patientin war inzwischen als genesen zu betrachten. Noch eine vierte Probe vom gleichen Tage brachte das gleiche Resultat. Die weiteren Untersuchungen in den darauffolgenden Tagen ließen ein Bakterienwachstum auf den angelegten Platten vermissen. Auch in diesem Fall wird es sich um eine Infektion mit „Enterokokken“ gehandelt haben. Der zuerst erhobene Befund von spärlichen Coli-Bakterien wird meines Erachtens keine wesentliche Rolle bei dem Krankheitsbild gespielt haben. Besonders interessant waren in diesem Falle die Schwankungen in der Virulenz des Stammes.

Fall 12: Das 1½jährige Kind Anna O. erkrankte plötzlich mit hohem Fieber und Erbrechen. Befund: Angina. Auf Schwitzpackungen schnelles Abklingen des Fiebers. Patientin wird am sechsten Behandlungstag beschwerdefrei entlassen. Diagnose: Angina follicularis, Cystitis.

Aus dem Urin wurden in Reinkultur Lanzettkokken in kurzen Ketten (galleunlöslich) gezüchtet, die dem Typ I angehörten. Bei typischem Verhalten der Bakterien (Gelatine, Milch geronnen, starke Trübung und Bodensatz in der Milchzuckerbouillon, Säuerung pH 4,91) gingen die Mäuse an einer foudroyanten Sepsis nach 15—20 Std. zugrunde. Die Bakterien konnten aus Herzblut und allen Organen wie auch bei den obigen Fällen gezüchtet werden. Auch bei Fortzüchtung des Stammes änderte sich sein morphologisches, kulturelles und biochemisches Verhalten nicht.

Fassen wir meine Befunde zusammen, so erscheint es fast als sicher, daß es sich bei den „Enterokokken“, wenn sie als Erreger bestimmter Erkrankungen gefunden werden, um eine für Menschen pathogene Variante der Milchsäurestreptokokken handelt.

Eine Abtrennung dieser Keime von den Milchsäurestreptokokken der Mundhöhle, des Darmtraktus oder des uropoëtischen Systems auf Grund biologischer oder morphologischer Charakteristika ist unmöglich. Findet man also Milchsäurestreptokokken bei Erkrankungen der Blase oder des Nierenbeckens in Reinkultur zahlreich im Urin oder in größeren Mengen vergesellschaftet mit spärlichen anderen Keimen (und dasselbe hat wohl auch Geltung für andere Erkrankungen), dann wird man sie als Erreger dieser Erkrankung ansprechen müssen. Es dürfte sich empfehlen, für diesen Fall den Namen

„Enterokokken“ beizubehalten, da er sich in der internationalen Nomenklatur eingebürgert hat.

Therapeutisch erscheint die Anwendung einer Autovakzine bei Infektionen mit diesen Keimen (siehe z. B. Fall 4 der Tabelle) von dem gleichen Wert zu sein, wie die Verwendung von Coli-Vakzine bei den Coli-Infektionen der Harnwege.

Literatur.

1) Gundel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. — 2) Schmitz, ebenda. Bd. 67. — 3) Ders., ebenda. Bd. 96. — 4) Meyer, K., Klin. Woch. 1925, S. 2291. — 5) Bitter u. Buchholz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. — 6) Gundel u. Himstedt, Münch. med. Woch. 1925. S. 1674. — 7) Olinescu, Un cas grave d'entérococcie, Loc. med. des Hôpitaux de Bucarest. 1925.

Vergleichende Untersuchungen über die Gewinnung präzipitierenden Antiserums zur Eiweissdifferenzierung von Kaninchen.

[Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Hochschule in Berlin (Dir.: Prof. Dr. J. Bongert).]

Von Prof. Dr. **Dikoff.**

Nach den grundlegenden Feststellungen von Jess (6), Uhlenhuth (7) und Schütze (8) über die Anwendung der Eiweiß-Präzipitation in der Praxis wurde von Uhlenhuth und Weidanz (9 u. 10) die älteste und bis jetzt auch allgemein angewandte Methode zur Gewinnung von präzipitierendem Antiserum eingeführt. Diese Methode besteht, wie bekannt, darin, daß den Versuchstieren 3mal in Zwischenräumen von 5—6 Tagen steigende Mengen Blutserum eingespritzt und 7—8 Tage nach der letzten Einspritzung die Impftiere entblutet werden. Dann kam die Methode von Fornet und Müller (17 u. 18), die es sich zum Ziele gesetzt hatten, die Zeit für die Gewinnung der präzipitierenden Sera zu kürzen; daher hieß sie auch: „die schnelle Immunisierungsmethode“. Fast zur selben Zeit teilte Schüller (12) das Ergebnis seiner Untersuchungen mit, auf Grund deren er Fleischauszüge als Antigen empfahl.

Wenn man die ganze Literatur dieser Frage verfolgt, kommt man zu dem Schlusse, daß die Ansichten über den Wert der verschiedenen Methoden und insbesondere über die Wertigkeit der bei der einen oder anderen Methode gewonnenen präzipitierenden Antisera weit auseinandergehen.

Unterzieht man die gebräuchlichen Methoden der Herstellung präzipitierender Antisera einer kritischen Betrachtung und berücksichtigt hierbei die Absichten, welche die Autoren bei ihren Versuchen geleitet haben, so fällt auf, daß die Methoden auf empirischem Wege gewonnen sind und auf empirisch festgestellten Tatsachen beruhen. Man stellte fest, daß 1. im Blute von Kaninchen bei parenteraler Einverlei-

bung von artfremden Eiweißsubstanzen (Fleischsaft oder Blutserum) spezifisch präzipitierend wirkende Antikörper entstehen, 2. daß das Quantum von Fleischsaft oder Blutserum für intravenöse und intraperitoneale Impfung verschieden ist, um denselben Immunisierungsgrad der Serumtiere zu erzielen, 3. der Präzipitingehalt des Serums keineswegs stets gleich ist und daß 4. die Titerhöhe des Blutserums von der individuellen Eigenschaft der einzelnen Kaninchen abhängig ist.

Diese Fragen konnten nur durch Versuche gelöst werden, daß man Kaninchen in methodischer Weise mit artfremdem, gelösten Eiweiß impfte, die nach gewissen Zeitabschnitten entnommenen Blutproben auf ihren präzipitierenden Wert untersuchte und bei ausreichendem Titer das Impftier zur Gewinnung des gesamten Serums entblutete. Hierbei machte man sehr bald die Feststellung, daß nicht jedes in gleicher Weise vorbehandelte Kaninchen ein brauchbares, präzipitierendes Serum liefert, vielmehr viele Impftiere in ihrem Blutserum die Bildung von Präzipitinen oder die Möglichkeit ihres Nachweises vermissen ließen.

Bei dieser Sachlage hätte man glauben sollen, daß man in dem Bestreben, weiterzukommen und die Gewinnung von präzipitierenden Seris sicherer zu gestalten, auch die Impftiere selbst in ihrem Verhalten der parenteralen Einführung artfremden Eiweißes gegenüber genauer studiert hätte, um irgendwelche Anhaltspunkte über den Vorgang und den zeitlichen Ablauf der Immunkörperbildung zu gewinnen. Auf Grund der praktischen Erfahrungen bei der Massenproduktion der Heil- und Schutzsera von großen Versuchstieren, Pferden, Maultieren, etc. ist ohne weiteres anzunehmen, daß auch bei Kaninchen, die bei der bisher üblichen oberflächlichen Betrachtung nach der Impfung eine Veränderung in ihrem Befinden nicht erkennen lassen, eine Impfreaktion auftritt, die sich durch Steigerung der Körperwärme oder auf irgendeine andere Weise zu erkennen gibt. Ist dies der Fall, dann ist weiter anzunehmen, daß ein Zusammenhang zwischen der Präzipitinbildung und der Reaktion des Organismus der Impftiere besteht, entsprechend dem Erfahrungsgrundsatz der Immunitätslehre, daß ohne Reaktion des tierischen oder menschlichen Organismus eine Immunität nicht entstehen kann. Vielleicht wäre man auch imstande, mit einiger Sicherheit aus der Intensität der ausgelösten Impfreaktion auf die Größe der Präzipitinbildung zu schließen.

Wie bereits erwähnt, ist der Titer des Serums von gleich vorbehandelten Kaninchen sehr verschieden. Dieses außerordentlich schwankende Verhalten der Kaninchen bei der Immunisierung hat man, wie bereits angedeutet, auf das sehr verschiedene individuelle Verhalten derselben zurückgeführt, und hier ist man stehen geblieben.

Uhlenhuth (13) drückt sich über diese sehr wichtige Frage in folgender Weise aus: „Allgemein gültige Vorschriften über die zweckmäßigste Art der Vorbehandlung können nicht gemacht werden, weil die Versuchstiere auch gegenüber verschiedenen Arten der Immunisierung, je nach ihrer Individualität, verschieden reagieren." Daß die Individualität bei der Bildung der Präzipitine eine sehr große Rolle spielt, ist ohne weiteres anzunehmen; aber dieses individuell verschiedene Verhalten müßte doch irgendwie wahrzunehmen sein, z. B. durch die verschiedene Reaktion des Tierorganismus. Mit dieser Frage hat man sich, soweit mir bekannt ist, bisher nicht befaßt.

Nach Rubenstein (31) mögen individuelle Unterschiede zwischen den Versuchstieren die Widersprüche zum Teil erklären. Aber auch

er ist nicht weitergegangen und hat versucht, durch mehrmalige Einspritzungen hochwertige Antisera zu erzielen. Rosanow (32) will als bewiesen ansehen, daß man beim schlechten Pflegen und Füttern der Versuchstiere niederwertiges Antiserum bekommt. Für die Richtigkeit dieser Ansicht spricht die Erfahrung, die man während des Krieges infolge des Mangels an Kraftfuttermitteln (Hafer, Gerste) bei der Behandlung von Kaninchen zwecks Gewinnung von präzipitierenden Seris hat machen müssen. Nur ausnahmsweise gelang es, ein einigermaßen brauchbares präzipitierendes Serum mit einem Titer von 1:5000 zu erzielen. Durch mangelhafte Pflege und Fütterung allein kann aber der große Unterschied in der Wertigkeit der Antisera von gleichbehandelten Kaninchen nicht erklärt werden, da der ungleiche Titer des Serums auch bei guter Pflege und reicher Fütterung beobachtet wird.

Eine individuell verschiedene Veranlagung zur Immunkörperbildung muß somit zur Erklärung herangezogen werden. Aus dieser Ueberlegung heraus ergibt sich die Notwendigkeit, durch methodische Immunisierungsversuche an Kaninchen mit artfremdem Eiweiß festzustellen, ob das individuell verschiedene Verhalten der Serumtiere gegenüber den verschiedenen Arten der Immunisierung sich durch Schwankungen in der Körperwärme oder auf irgendeine andere Weise kundgibt.

Auf Veranlassung von Prof. Dr. Bongert habe ich, diesem Gedankengang folgend, vor und nach der Einspritzung die Innentemperatur der Impfkaninchen festgestellt. Und zwar wurde täglich 2mal die Innentemperatur gemessen und hierbei gleichzeitig die Impftiere auf irgendeine organische Reaktion untersucht und beobachtet. Um auch hinsichtlich der zuverlässigsten Methode der Gewinnung präzipitierender Sera Klarheit zu gewinnen, habe ich außerdem vergleichende Untersuchungen mit allen bis jetzt zur Anwendung gebrachten Immunisierungsarten ausgeführt. Wenn auch von vornherein anzunehmen war, daß bei der Vorbehandlung der Kaninchen nach jedesmaliger Injektion von artfremdem Eiweiß in der Regel eine mehr oder weniger erhebliche Steigerung der Körperwärme eintritt, so war doch von Wichtigkeit, die Frage zu entscheiden, ob die Hochwertigkeit des Serums mit der Höhe der Temperatursteigerung Uebereinstimmung zeigt.

Wenn mit der Lösung dieser Frage im positiven Sinne auch das Wesen des individuell verschiedenen Verhaltens der Tiere noch nicht geklärt ist, so sind wir ohne Zweifel doch der Aufklärung etwas näher gekommen, wenigstens insofern, als wir bereits bei der Vorbehandlung auf Grund der Temperaturkurven zu sagen imstande sein werden, welches von den Impftieren ein hochwertiges Antiserum liefern wird und welches nicht.

Eigene Untersuchungen.

Für die Untersuchungen wurden bestgenährte, vollwüchsige, langohrige Kaninchen aus dem Kaninchenbestande des Institutes ausgesucht. Die Vorbehandlung der Kaninchen wurde zeitlich so festgelegt, daß die Impfungen, Temperaturaufnahme, Blutprobeentnahme, Titerbestimmung und Entblutung ohne Ueberhäufung vor sich gehen konnten. Um dies zu ermöglichen, wurde die Vorbehandlung serienweise vorgenommen. Ich habe vier Serien von Untersuchungen nacheinander ausgeführt; die erste Serie Kaninchen wurde mit Pferdeblutserum, die zweite Serie

mit Rinderblutserum, die dritte Serie mit Rindfleischsaft und die letzte mit Rehfleischsaft immunisiert.

Das Pferdeblut habe ich vom Berliner Schlachthof erhalten. Es wurde möglichst aseptisch in vorher sterilisierten, hohen Glaszylindern beim Schlachten der Pferde aufgefangen. Das abgeschiedene, steril abgefüllte Serum hat sich lange gehalten. Vor den Einspritzungen wurde es stets auf Bakteriengehalt untersucht. Das Rinderblutserum habe ich auf dieselbe Weise gewonnen und verwendet.

Bei der Gewinnung des Fleischsaftes bin ich nicht den Angaben von Gröning (16) und Schüller (12) gefolgt. Ich war bestrebt, in wahrem Sinne des Wortes Fleischsaft zu erhalten. Zu diesem Zwecke habe ich erst versucht, diesen durch Auspressen von zerkleinertem, durch die Fleischhackmaschine getriebenem Fleische zu erhalten. Dieser Fleischsaft aber hatte den Fehler, daß er einen dicken Bodensatz bildete und nicht ganz klar wurde, trotzdem ein auffälliger Keimgehalt nicht vorhanden war. Zur Ausführung eines weiteren Versuches habe ich ein großes Fleischstück von einem frisch geschlachteten, als untauglich zum menschlichen Genuß bezeichneten Tiere vom Schlachthof kommen lassen und im Kühlraum aufbewahrt. Vor jeder Einspritzung schnitt ich ein 1 bis 2 kg schweres Stück ab und brachte es in den Gefrierraum zum völligen Gefrieren. Dann wurde von dem Stück mit einem sterilen Messer und ebensolcher Pinzette auf steriler Unterlage die ganze Oberfläche bis 1 cm dick abgeschält, das Fleischstück in ein großes, mit Deckel versehenes, steriles Glasgefäß gelegt und dieses in die Nähe der Heizung gestellt, damit es ganz schnell auftauen konnte. Um das Auftauen zu beschleunigen, zerlegte ich das große herausgeschnittene Kernstück in einige kleinere Stücke. Nach dem Auftauen schnitt ich diese in dünne Scheiben und gab diese in die vorher sterilisierte Fleischpresse zum Auspressen des Fleischsaftes. Auf diese Weise gelang es mir, unter Ausschaltung des auf der Oberfläche des durchgefrorenen Fleischstückes sich abscheidenden Kondenswassers reinen Fleischsaft zu gewinnen.

Der aus der Presse abfließende Fleischsaft wurde in großen sterilen Petri-Schalen aufgefangen und dann in einer elektrisch getriebenen Zentrifuge scharf zentrifugiert. Ich erhielt dann einen ganz klaren, dunkelroten Fleischsaft mit einem feinen, grauweißen Bodensatz, der die Kuppe des Zentrifugenröhrchens ausfüllte. Der klare, überstehende Fleischsaft wurde abgehoben und auf Keimgehalt durch Plattenkultur untersucht. Dabei zeigte sich, daß er doch nicht absolut steril war, aber er enthielt verhältnismäßig wenig Keime. Bakterioskopisch waren in dem so behandelten Fleischsaft Keime nicht nachzuweisen. Auf diese Weise konnte die von Schüller (l. c.) empfohlene Sterilisation von bakterienhaltigem Fleischsaft oder Fleischauszug mit Diaphtherin vermieden werden.

Zur möglichst weitgehenden Entkeimung hat sich gegenüber der schwierigen Filtration durch ein Kieselgur- oder Asbestfilter das scharfe Auszentrifugieren gut bewährt. Unverdünnt geht der zähflüssige Fleischsaft außerordentlich schwer durch das Filter.

Die Impfung der Kaninchen geschah intravenös und intraperitoneal.

Zur intravenösen Impfung diente die äußere Ohrvene, wobei die erste Injektion möglichst nach der Ohrspitze und die folgenden immer etwas mehr nach dem Ohrgrund zu ausgeführt wurden, um die Vene möglichst wegsam für die weiteren Impfungen zu erhalten.

Die intraperitonealen Einspritzungen wurden in der rechten hinteren Bauchgegend nach Abscheren der Haare und Sterilisation der Haut ausgeführt, wobei ein Gehilfe das Kaninchen senkrecht mit dem Kopf nach unten hielt, indem er mit der einen Hand die Vorderläufe, mit der anderen die Hinterläufe faßte. An der desinfizierten Stelle wurde die Haut zur Seite gezogen und die auf die Spritze aufgesetzte Kanüle mit einem kurzen Druck in die Bauchhöhle eingestoßen. Durch Bewegung der Spritze nach verschiedener Richtung überzeugt man sich, daß man keine Darmteile getroffen hat, und injiziert dann den Spritzeninhalt. Auf diese Weise sind Verletzungen der Baucheingeweide bei intraperitonealen Impfungen mit Sicherheit zu vermeiden.

Erwähnt sei noch, daß Blutserum und Fleischsaft vor der Einspritzung bis zur Höhe der Körpertemperatur durch Einstellen in ein Wasserbad von 39^0 angewärmt wurden.

Die 1. Serie von 12 Kaninchen wurde in 4 Gruppen zu je 3 Tieren mit Pferdeblutserum vorbehandelt. Die 1. Gruppe wurde an 3 aufeinander folgenden Tagen mit je 1, 2 und 3 ccm Blutserum intravenös gespritzt; die 2. Gruppe in gleicher Weise mit denselben Mengen 3mal, jedoch in Zwischenräumen von 5—6 Tagen; die 3. Gruppe wurde intraperitoneal mit je 5, 10 und 15 ccm 3 Tage hintereinander gespritzt, die 4. Gruppe mit derselben Menge in Zwischenräumen von 5—6 Tagen.

Eine 2. Serie von 9 Kaninchen wurde in 3 Gruppen von je 3 Kaninchen mit Rinderserum geimpft und zwar die 1. Gruppe nach der Schnellmethode intravenös mit je 1, 2 und 3 ccm 3 Tage hintereinander, die 2. Gruppe mit denselben Serummengen in Zwischenräumen von 5 bis 6 Tagen und die 3. Gruppe intraperitoneal mit 5, 10 und 15 ccm 3 Tage hintereinander.

Eine 3. Serie von 9 Kaninchen diente zur Vorbehandlung mit Rinderfleischsaft. Es sollte hierbei die Wertigkeit des Serums der Kaninchen, die während der Vorbehandlung eine Temperatursteigerung nicht gezeigt hatten, verglichen werden mit dem präzipitierenden Serum von solchen Kaninchen, die eine merkliche Fieberreaktion erkennen ließen. Sämtliche 9 Kaninchen wurden zunächst mit je 2 ccm Fleischsaft intravenös geimpft und dann erst erfolgte je nach Ausfall der Impfreaktion die Gruppeneinteilung.

Die 1. Gruppe von 3 Kaninchen, die Temperaturerhöhung zeigten, wurde weiter nach der schnellen Methode mit je 3 und 4 ccm Fleischsaft intravenös gespritzt. Die 2. Gruppe von 3 Kaninchen, die mit Ausnahme von Kaninchen Nr. 6 eine mäßige Temperaturerhöhung zeigten, und die 3. Gruppe von Kaninchen, die überhaupt keine Temperaturerhöhung erkennen ließen, wurden nach der langsamen Methode in Zwischenräumen von 5—6 Tagen weiter vorbehandelt. Die beiden letzten Kaninchengruppen wurden mit größeren Mengen Fleischsaft, als die 1., und zwar mit je 2, 4 und $5^1/_2$ bzw. 6 ccm in Zwischenräumen von 5—6 Tagen geimpft.

Jede Kaninchengruppe wurde abgesondert von den anderen gehalten und gefüttert.

Die Temperatur wurde jeden Tag 2mal, vormittags zwischen $8^1/_2$ und 9 und nachmittags zwischen 4 und 6 Uhr gemessen. Die Temperaturaufnahme geschah rektal. Es wurden 3 Thermometer verwendet, ein gewöhnliches, für Menschen bestimmtes, mit Skala bis 43^0 C und 2 für kleine Versuchstiere besonders hergestellte.

Bei den ersten 2 Gruppen der 1. Serie habe ich die Temperatur nur einmal vor der Vorbehandlung gemessen. Bei allen übrigen Gruppen geschah die Temperaturmessung der Kaninchen 2 Tage lang vormittags und nachmittags, und am 3. Tage erhielten sie die 1. Injektion.

Die Blutentnahme zur Wertigkeitsprüfung des Antiserums geschah ganz verschieden. Ich habe die Blutentnahme am 6., 7., 8., 9., 10., 11., 12., 13. und 14. Tage nach der letzten Impfung vorgenommen. Nachdem ich aber festgestellt hatte, daß alle Tiere eine Temperaturerhöhung zeigen, wenn auch nicht schon nach der 1. oder 2. Einspritzung, so doch nach der 3., habe ich die Probeblutentnahme auch 5 Tage nach der 1. Einspritzung bei der 3. Serie Kaninchen, die mit Temperatursteigerung reagiert hatte, vorgenommen. Die Blutentnahme geschah aus der Randvene der Ohren. Nach entsprechender Desinfektion mit Alkohol wurde die Vene direkt mit der auf die Spitze aufgesetzten feinen Kanüle angestochen und Blut mit der Spritze aufgezogen.

Die Wertigkeitsbestimmung wurde entsprechend der Anweisung von Uhlenhuth ausgeführt. Als Testflüssigkeit habe ich immer die entsprechende Serumart benützt. Der entsprechende Fleischsaft hat sich hierzu als weniger geeignet erwiesen. Eine positive Reaktion als Beweis für das Vorhandensein von Präzipitinen habe ich dann angenommen, wenn ich eine gut ausgeprägte Ringbildung in kurzer Zeit entstehen sah.

Nach der Beendigung dieser vergleichenden Versuche zur Gewinnung von präzipitierendem Antiserum habe ich noch eine 4. Versuchsreihe mit Rehfleisch ausgeführt. Neben der Gewinnung von Rehantiserum für die Bedürfnisse des Instituts sollte dieser weitere Versuch gleichzeitig zur Nachprüfung der erlangten Ergebnisse dienen.

Das in der Zentralmarkthalle gekaufte frische Rehfleisch wurde in den Gefrierraum des Instituts zum Durchfrieren gebracht und dann in der oben angegebenen Weise der Fleischsaft durch Auspressen gewonnen.

Von der Entkeimung des zähflüssigen, mit phys. Salzlösung (3:1) verdünnten Fleischsaftes durch Passieren eines Seitzschen Filters mußte Abstand genommen werden, da die Filtration außerordentlich langsam und spärlich erfolgte. Es gelang, durch 30 Min langes Zentrifugieren bei 5000 Umdrehungen einen klaren Fleischsaft zu gewinnen. Zu der jedesmaligen Impfung wurde frischer Fleischsaft verwertet, da derselbe ohne Konservierungsmittel sich nicht lange hält und von diesem Abstand genommen werden sollte.

Im ganzen wurden 6 Kaninchen zu der Herstellung von Rehantiserum verwendet, die in 2 Gruppen geteilt wurden. Gruppe A bestand aus 3 Kaninchen, die bereits mit Rinderblutserum und Rinderfleischsaft gespritzt waren, aber einen brauchbaren Titer bei der Probeblutentnahme nicht gezeigt hatten. Zur 2. Gruppe B wurden 3 noch nicht in Versuch gewesene Kaninchen verwendet.

Zur Titerbestimmung des Antiserums mußte anstatt Rehblutserums als Testflüssigkeit Rehfleischsaft verwendet werden, der in der oben angegebenen Weise gewonnen wurde. Der klar zentrifugierte Rehfleischsaft wurde in den Verdünnungen: 1:100, 1:500, 1:1000, 1:2000 als Testflüssigkeit benutzt.

Anordnung und Ergebnis der Versuche sind in nachstehenden Tabellen übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle I.

Die Ergebnisse der Untersuchungen.

Serie I mit Pferdeserum vorbehandelte Kaninchen.

Nr. der Kaninchen	Vorbehandlung							Erhöhung der Temperatur			Titer
	Datum der Injektion			Art der Injektion	Injizierte Serummenge in ccm			Nach der I. Injektion	Nach der II. Injektion	Nach der III. Injektion	
	I. Injektion	II. Injektion	III. Injektion		I. Injektion	II. Injektion	III. Injektion				
1	31. 10. 24	1. 11.	2. 11.	Intravenöse Schnellimmunisierg.	1	2	3	39,4	39,8	40,1	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 5000; 8 Tage 1 : 2000
2	31. 10. 24	1. 11.	2. 11.	dgl.	1	2	3	39,5	40,0	40,1	Nach der III. Injektion 6 Tage —; 8 Tage 1 : 10 000
3	31. 10. 24	1. 11.	2. 11.	„	1	2	3	39,4	39,9	40.4	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 5000; 8 Tage 1 : 8000
4	31. 10. 24	5. 11.	11. 11. 24	intravenöse langsame Immunisier.	1	2	3	40,0	40,6	40,5	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 2000; 9 Tage 1 : 10000
5	31. 10. 24	5. 11.	11. 11. 24	dgl.	1	2	3	39,8	39,8	40,5	Nach der III. Injektion 6 Tage —; 9 Tage 1 : 10 000
6	31. 10. 14	5. 11.	11. 11. 24	„	1	2	3	39,9	39,6	41,0	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 5000; 9 Tage 1 : 15000
7	6. 11. 24	7. 11.	8. 11. 24	intraperiton., Schnellmethode	5	10	15	40,6	40,3	40,1	Nach der III. Injektion 12 Tage 1 : 5000; 16 Tage 1 : 500
8	6. 11. 24	7. 11.	8. 11. 24	dgl.	5	10	15	39.8	39,9	40,1	Nach der III. Injektion 12 Tage 1 : 5000; 16 Tage 1 : 500
9	6. 11. 24	7. 11.	8. 11. 24	„	5	10	15	39,8	39,9	40,8	Nach der III. Injektion 12 Tage 1 : 2000; 16 Tage 1 : 500
10	6 11. 25	12. 11. 24	17. 11. 24	intraperiton., langsame Immunisier.	5	10	15	40,1	40,9	38,9	10 Std. nach der III. Injektion gestorben (Anaphylaxie)
11	6. 11. 25	12. 11. 24	17. 11. 24	dgl.	5	10	15	40,8	40,3	40,2	8 Tage nach der III. Injektion 1 : 5000; 12 Tage nach derselben 1 : 8000
12	6. 11. 25	12. 11. 24	17. 11. 24	„	5	10	15	40.6	40,2	38,4	9 Std. nach der III. Injektion gestorben (Anaphylaxie).

Betrachtungen über die Ergebnisse der Untersuchungen.

Die durch die vorstehenden Versuche bei der Gewinnung von präzipitierendem Serum gemachten Erfahrungen und Feststellungen verdienen nach verschiedener Richtung hin Beachtung.

I.

Bei Betrachtung der Untersuchungsergebnisse fallen zunächst die außerordentlich verschiedenen Temperaturerhöhungen der in der Vorbehandlung gewesenen Kaninchen auf. Eine Temperaturerhöhung, die als Impfreaktion aufzufassen ist, ist keineswegs bei sämtlichen Impftieren eingetreten. Von 9 nach der Fornet-Müllerschen Schnellmethode intravenös vorbehandelten Kaninchen haben nach der 1. Einspritzung nur 3, nach der 2. Einspritzung 7 und nach der 3. alle 9 Tiere

Tabelle II.
Serie II, mit Rinderserum vorbehandelte Kaninchen.

[illegible]	Vorbehandlung							Erhöhung der Temperatur			Titer
	Datum der Injektion			Art der Injektion	Die Menge des Antigens in ccm			Nach der I. Injektion	Nach der II. Injektion	Nach der III. Injektion	
	I. Injektion	II. Injektion	III. Injektion		I. Injektion	II. Injektion	III. Injektion				
3	2. 12. 24	3. 12. 24	4. 12. 24	Intravenös, Schnellmethode	2	$2^1/_2$	3	39,8	39,7	40,9	Nach der III. Injektion 6 Tage —; 8 Tage 1 : 2000
4	2. 12. 24	3. 12. 24	4. 12. 24	dgl.	2	$2^1/_2$	3	39,7	40,1	40,8	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 2000; 8 Tage 1 : 5000
5	2. 12. 24	3. 12. 24	4. 12. 24	„	2	$2^1/_2$	3	39,7	40,0	40,6	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 5000; 8 Tage 1 : 10 000
6	2. 12. 24	—	—	intravenös, langsame Methode	2	—	—	—	—	—	Gestorben gleich nach der I. Injektion
7	2. 12. 24	7. 12. 24	13. 12. 24	dgl.	2	$2^1/_2$	3	39,8	40,6	40,0	Nach der III. Injektion 7 Tage 1 : 2000; 9 Tage 1 : 10 000
8	2. 12. 24	7. 12. 24	13. 12. 24	„	2	$2^1/_2$	3	39,5	39,5	41,0	Nach der III. Injektion 7 Tage 1 : 500; 9 Tage 1 : 2000
9	2. 12. 24	3. 12. 24	4. 12. 24	intraperiton., Schnellmethode	5	10	15	39,9	40,6	40,1	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 2000; 10 Tage 1 : 8000
0	2. 12. 24	3. 12. 24	4. 12. 24	dgl.	5	10	15	40,1	40,2	39,9	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 5000; 10 Tage 1 : 8000
1	2. 12. 24	3. 12. 24	4. 12. 24	„	5	10	15	41,0	40,1	40,8	Nach der III. Injektion 6 Tage 1 : 5000; 10 Tage 1 : 5000

eine Temperaturerhöhung gezeigt. Von den nach der langsamen Methode in Zeitintervallen von 5—6 Tagen intravenös vorbehandelten 9 Kaninchen haben nach der 1. Einspritzung nur 2, nach der zweiten 7 und nach der 3. wieder alle eine Temperaturerhöhung aufgewiesen.

Bei den intraperitoneal vorbehandelten Tieren war eine höhere Reaktionsziffer bei der 1. und 2. Impfung festzustellen, was offenbar mit den injizierten größeren Antigenmengen in ursächlichem Zusammenhang steht. Nach der 1. Einspritzung haben von den geimpften 6 Kaninchen 3, nach der zweiten 5 und nach der 3. alle 6 Tiere Steigerung der Innenwärme über 39,9° C gezeigt.

Daraus ist zu schließen, daß die in Vorbehandlung stehenden Kaninchen keineswegs gleichmäßig reagieren. Eine Temperaturerhöhung findet aber immer statt, wenn auch nicht sofort nach der ersten Einspritzung oder nach der zweiten, so doch sicher nach der dritten. Einen Fall, in welchem Kaninchen auch nach der 3. Einspritzung nicht mit einer Temperaturerhöhung reagierten, habe ich nicht festgestellt. Die Verschiedenheit in der Steigerung der Innenwärme nach der parenteralen Einverleibung von artfremdem Eiweiß ist der Ausdruck einer verschiedenen Reaktionsfähigkeit des tierischen Organismus — des ungleichen Bindungsvermögens der entsprechenden Rezeptorengruppen im Sinne Ehrlichs. Daraus erklärt sich weiter, daß die Fähigkeit, ein mehr oder weniger brauchbares präzipitierendes Antiserum zu liefern, bei Kaninchen und auch bei anderen Tieren, individuell außerordent-

Tabelle III.
Serie III mit Rindfleischsaft vorbehandelte Kaninchen.

Nr. der Kaninchen	Vorbehandlung							Erhöhung der Temperatur			Titer
	Datum der Injektion			Die Art der Injektion	Die Menge des Antigens in ccm			Nach der I. Injektion	Nach der II. Injektion	Nach der III. Injektion	
	I. Injektion	II. Injektion	III. Injektion		I. Injektion	II. Injektion	III. Injektion				
22	18. 12. 24	19. 12. 24	20. 12. 24	Intravenöse Schnellmethode	2	4	5	40,5	40,8	40,0	Nach der III. Injektion 8 Tage 1:8000
23	18. 12. 24	19. 12. 24	20. 12. 24	dgl.	2	4	5	40,5	40,6	39,9	Nach der III. Injektion 8 Tage 1:15000
24	18. 12. 24	19. 12. 24	20. 12. 24	„	2	4	5	41,1	40,2	39,9	Nach der III. Injektion 8 Tage 1:10000
25	18. 12. 24	24. 12. 24	30. 12. 24	Intravenös in 5—6tägigen Intervallen	2	4	5½	40,2	41,0	—	Nach der I. Injektion 8 Tage 1:5000; gestorben nach der III. Injektion
26	18. 12. 24	24. 12. 24	30. 12. 24	dgl.	2	4	5½	41,0	42,0	40,6	Nach der I. Injektion 5 Tage 12000; nach der III. Injektion 6 Tage 1:10[illegible]; 9 Tage 1:20000
27	18. 12. 24	24. 12. 24	30. 12. 24	„	2	4	5½	39,8	40,9	40,4	Nach der I. Injektion 5 Tage —; nach der III. Injektion 6 Tage 1:2000; 9 Tage 1:15000
28	18. 12. 24	24. 12. 24	30. 12. 24	Intravenös ebenfalls ü. 0 langsam. Methode	2	4	6	39,6	40,4	40,2	Nach der I. Injektion 5 Tage kein Titer; nach der III. Injektion 6 Tage 1:2[illegible]; 9 Tage 1:15000
29	18. 12. 24	24. 12. 24	30. 12. 24	dgl.	2	4	6	39,6	40,4	—	Nach der I. Injektion 5 Tage kein Titer; nach der III. Injektion gestorben
30	18. 12. 24	24. 12. 24	30. 12. 24	„	2	4	6	39,4	41,0	40,8	Nach der I. Injektion 5 Tage kein Titer; nach der III. Injektion 6 Tage 1:50[illegible]; 9 Tage 1:20000

lich verschieden ist. Diese längst bekannte Tatsache erfordert für die Herstellung von präzipitierenden Seris stets die gleichzeitige Vorbehandlung von mindestens 3 Kaninchen.

II.

In der Annahme, daß ich vielleicht bei den weiteren Untersuchungen über Kaninchen, die keine Temperaturerhöhung zeigen, nicht verfügen könnte, habe ich in der 3. Versuchsreihe die Kaninchen, Nr. 27, 28, 29 und 30, die nach der 1. Einspritzung keine Erhöhung der Temperatur zeigten, auf Präzipitingehalt des Blutserums untersucht und zum Vergleich den Präzipitingehalt des Serums der Kaninchen Nr. 25 und 26, die eine Temperaturerhöhung nach der 1. intravenösen Impfung zeigten, herangezogen. Hierbei hat sich herausgestellt, daß die Kaninchen, die keine Erhöhung der Temperatur erkennen ließen, auch kein Serum gaben, das Präzipitine enthielt, während die Kaninchen Nr. 25 und 26 mit einer Temperaturreaktion von 40,2 und 41° C bei der

Tabelle IV.
Serie IV mit Rehfleischsaft vorbehandelte Kaninchen.

	Vorbehandlung							Erhöhung der Temperatur			Titer
	Datum der Injektion			Art der Injektion	Die Menge des Antigens ccm						
	I. Injektion	II. Injektion	III. Injektion		I. Injektion	II. Injektion	III. Injektion	Nach der I. Injektion	Nach der II. Injektion	Nach der III. Injektion	
1	11. 11. 15	—	—	intravenös	$1^1/_2$	—	—	—	—	—	gestorben 3 Stunden nach der I. Injektion und zwar infolge von Anaphylaxie, die „dadurch zu erklären“ ist, daß diese Kaninchen mit Rinderserum vorbehandelt waren, aber ein brauchbares Serum nicht geliefert hatten
2	11. 11. 25	—	—	„	$1^1/_2$	—	—	—	—	—	
3	11. 11. 25	—	—	„	$1^1/_2$	—	—	—	—	—	
4	11. 11. 25	16. 11. 25	—	intravenös	$1^1/_2$	2	—	40,8	40,5	—	nach der II. Injektion 8 Tage 1 : 500 (Titerprüfung mit Fleichsaft)
5	11. 11. 25	16. 11. 25	—	„	$1^1/_2$	2	—	41,0	41,1	—	nach der II. Injektion 8 Tage 1 : 2000 (Titerprüfung mit Fleischsaft)
6	11. 11. 25	16. 11. 25	—	„	$1^1/_2$	2	—	40,3	40,2	—	nach der II. Injektion 8 Tage 1 : 1000 (Titerprüfung mit Fleischsaft)

Tabelle V.
Erhöhung der Körpertemperatur über 39,9° (ohne die Kaninchen von IV. Serie **und** die gestorbenen)

Eintritt der Temperatursteigerung	Intravenöse Vorbehandlung				Intraperitoneale Vorbehandlung			
	Schnellmethode		Langsame Methode		Schnellmethode		Langsame Methode	
	vorbehandelt im ganzen	Erhöhung d. Temperatur	vorbehandelt im ganzen	Erhöhung d. Temperatur	vorbehandelt im ganzen	Erhöhung d. Temperatur	vorbehandelt im ganzen	Erhöhung d. Temperatur
Nach der I. Injektion	9	3	9	2	6	3	1	1
„ „ II. „	9	7	9	7	6	5	1	1
„ „ III. „	9	9	9	9	6	6	1	1

5 Tage nach der ersten Impfung vorgenommenen Serumimpfung bereits einen Serumtiter von 5000 und 2000 aufwiesen.

Hieraus ist zu folgern, daß bei Kaninchen, die nach der Einverleibung des Antigens keine Temperatursteigerung zeigen, auch keine Präzipitinbildung stattfindet. Nach dieser Richtung hin wären allerdings weitere Untersuchungen erwünscht.

III.

Unter Berücksichtigung der Feststellungen, daß bei der Gewinnung von präzipitierendem Antiserum die Versuchstiere, wenn auch oft nicht nach der 1., so doch nach der 2. oder 3. Impfung mit Temperatur-

erhöhung reagieren und daß ohne letztere eine Bildung von Präzipitinen nicht erfolgt, muß man zugeben, daß es auf dem bisherigen, rein empirischen Wege sehr gut gelungen ist, mit der dreimaligen Einspritzung den biologischen Vorgang der Präzipitinbildung zu treffen und auch in vielen Fällen ein wirksames Antiserum zu gewinnen. Es muß aber auch gleich hinzugefügt werden, daß die dreimalige Einspritzung in weit höherem Maße die praktische Bedeutung hat, möglichst alle in Versuch genommene Tiere zur Präzipitinbildung zu veranlassen, als die Wertigkeit des Antiserums selbst zu erhöhen, denn die Eigenschaft, ein brauchbares, hochwertiges Immunserum zu liefern, ist, wie bereits erwähnt, nicht bei allen Kaninchen vorhanden. Auch hat Uhlenhuth (l. c.) bereits darauf hingewiesen, daß man durch eine mehr als dreimalige Impfung eine Erhöhung des Titers nicht erzielt, daß vielmehr letzterer abnimmt. Es ist aber die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß Kaninchen nach zweimaliger, ja selbst nach einmaliger Impfung bei erheblicher Temperatursteigerung als Impfreaktion ein brauchbares Antiserum liefern. In den obigen Versuchsreihen ist leider nur einmal zum Vergleich der Immunkörperbildung bei fieberhaft nach der Impfung reagierenden Kaninchen eine Titerbestimmung des Serums vorgenommen, sonst, wie üblich, nur nach der 3. Impfung. Hierbei hat sich ergeben, daß Kaninchen Nr. 25 und 26 bei Temperatursteigerung über 40° C schon nach der 1. Impfung mit Rindfleischsaft ein brauchbares präzipitierendes Serum lieferten. Andererseits wurde von Kaninchen Nr. 5 und 6, die erst nach der 3. Impfung reaktive Steigerung der Innenwärme zeigten, und von denen anzunehmen ist, daß vorher eine erhebliche Antikörperbildung nicht stattgefunden haben kann, ein hochwertiges Serum (1:15000) gewonnen.

Unter Beachtung der Temperatursteigerung als Impfreaktion sind weitere Versuche notwendig, um mit Sicherheit festzustellen, ob schon eine einmalige parenterale Antigen-Einverleibung die Bildung eines hochwertigen präzipitierenden Serums in einer für die Praxis der Serumgewinnung vorteilhaften Häufigkeit auslösen kann. Solche, ein gutes Serum liefernden Kaninchen weiter zu spritzen in der Absicht, den Titer des Serums zu steigern, ist nach den gemachten Erfahrungen so gut wie nutzlos. Die Kaninchen aber, die nach der 1. Impfung keine Temperatursteigerung, zeigen, sind zur Serumgewinnung keineswegs als ungeeignet anzusehen. Im Gegenteil, sie sind durch die 1. Impfung empfindlicher gemacht und haben erst die Fähigkeit erlangt, auf das parenteral einverleibte Antigen mit der Bildung von Antikörpern zu reagieren. Zeigen die Versuchstiere nach der 2. Impfung eine erhebliche Temperatursteigerung, so ist die Titerbestimmung einer entnommenen Blutprobe auf Wertigkeit vorzunehmen.

Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen (vgl. Tabellen) hat die Titerbestimmung am 9. Tage nach der letzten Einspritzung das beste Ergebnis hinsichtlich der Wertigkeit des Serums geliefert. Dementsprechend ist zweckmäßig in Uebereinstimmung mit den Feststellungen von Uhlenhuth das Verblutenlassen der Serumtiere bei nachgewiesener Brauchbarkeit des Serums am 9. Tage nach der Impfung vorzunehmen; zwecks Serumgewinnung die Tötung der Serumtiere bis über den 12. Tag hinaus zu verschieben, empfiehlt sich nicht, da der Titer schnell sinkt (s. Tab. I).

IV.

Was die Vorzüge oder Nachteile der sog. Schnellimmunisierung nach Fornet und Müller gegenüber der langsamen Immunisierung in 5—6tägigen Intervallen bei intravenöser und intraperitonealer Impfung anbelangt, so ist folgendes als Ergebnis festzustellen. Der intravenösen Impfung ist vor der intraperitonealen wegen des erheblich geringeren Antigenbedarfs der Vorzug zu geben, was besonders bei der Verwendung von Fleischsaft als Antigen in Betracht kommt. Die subkutane Impfung hat man bekanntlich ganz fallen lassen, da bei Kaninchen die Resorptionsverhältnisse in der lockeren Subkutis für die erforderlichen großen Serummengen ungünstig sind und auch bei Verwendung sterilen Serums häufig zur Abszeßbildung Anlaß geben. Die Schnellimmunisierung hat den großen Vorzug vor der langsamen Immunisierung, daß die interkurrenten Verluste an Serumtieren infolge von Anaphylaxie, die besonders bei der intraperitonealen Impfung zu befürchten sind, vermieden werden. In den vorliegenden Versuchen ist bei der langsamen, intravenösen Immunisierung ein Todesfall infolge Anaphylaxie nicht eingetreten. Hinsichtlich der Gewinnung eines möglichst hochwertigen präzipitierenden Antiserums ist jedoch der langsamen Immunisierung bei intravenöser Impfung der Vorzug zu geben, wie aus Tab. I und III ersichtlich.

V.

Endlich ist die Frage, ob zur Herstellung hochwertiger präzipitierender Sera zur Differenzierung der Fleischarten Blutserum oder Fleischsaft der betreffenden Tierart geeigneter ist, in Bestätigung der Feststellungen von Uhlenhuth, Schüller, Gröning, Manteufel und Tomioka u. a. dahin zu beantworten, daß dem Fleischsaft der Vorzug zu geben ist. Da der Fleischsaft in der erforderlichen Menge durch Gefrierenlassen, schnelles Auftauen und Abpressen mit anschließendem scharfen Zentrifugieren oder Filtrieren durch das gebräuchliche Seitzsche Asbestfilter sich auch möglichst steril unschwer gewinnen läßt, kann die leichtere, sterile Gewinnung und Sterilerhaltung des Blutserums nicht mehr Grund sein, daß man diesen den Vorzug gibt und ausschließlich als Antigen verwendet.

VI.

Zum Schluß ist noch als auffällige Feststellung mitzuteilen, daß Kaninchen durch Impfung mit Rinderserum oder Rindfleischsaft überempfindlich gegen Rehfleisch-Antigen werden. Die Kaninchen No. 31, 32 und 33 hatten 2 Monate vor der Impfung mit Rehantigen zur Gewinnung von Rinder-Antiserum gedient und wurden wegen zu niedrigen Titers des Serums für andere Versuche bestimmt und gut gefüttert. Im Verlauf von 3 Std. nach der intravenösen Impfung von $1^1/_2$ ccm Rehfleischsaft gingen die Kaninchen unter anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde, während 3 weitere nicht vorbehandelte Kaninchen die gleichzeitige 1. und auch die 2—5 Tage später vorgenommene Impfung mit $1^1/_2$ und 2 ccm Rehfleischsaft gut überstanden haben.

Schlußfolgerungen.

Vom Standpunkte der Praxis lassen sich die Ergebnisse der Untersuchungen über die zweckmäßige Gewinnung präzipitierender Sera für die Eiweißdifferenzierung, wie folgt, zusammenfassen:

1) Zur Gewinnung eines hochwertigen Antiserums zwecks Bestimmung der Fleischart ist der Vorbehandlung mit Fleischsaft als Antigen gegenüber der mit Blutserum unbedingt der Vorzug zu geben. Die Gewinnung des Fleischsaftes geschieht zweckmäßig durch Gefrierenlassen eines größeren Fleischstückes, Abtragen der oberflächlichen, bakterienhaltigen, gefrorenen Schicht, schnelles Auftauen in einem sterilen, mit Deckel versehenen Glasgefäß, Zerkleinern und Auspressen. Zur weiteren Entkeimung kann man den gewonnenen Fleischsaft scharf zentrifugieren oder durch ein Seitzsches Filter laufen lassen. — 2) Die intravenöse, in 5tägigen Intervallen erfolgende langsame Immunisierung bietet die meiste Aussicht auf die Gewinnung eines brauchbaren, hochwertigen Antiserums. — 3) Die Impfreaktion ist durch Feststellung der Körperwärme vor und nach jeder Impfung morgens, mittags und abends zu kontrollieren. — 4) Bei den nach der ersten Impfung mit Temperatursteigerung über 40° C reagierenden Kaninchen ist am 9. Tage nach der Impfung eine Probeblutentnahme zum Zwecke der Titerbestimmung auszuführen. Bei einem Titer von 1:10000 und darüber ist das Serumtier zur Serumgewinnung entbluten zu lassen. Die nicht fieberhaft reagierenden Kaninchen sind 5 Tage nach der 1. Impfung zum 2. Male mit doppelter Antigenmenge zu impfen und bei nicht eintretender Steigerung der Innenwärme zum 3. Male mit der 3fachen 1. Dosis.

Literatur.

1) Kraus, R., Ueber die spezifischen Niederschläge. (Handb. d. path. Mikroorg. 1913.) — 2) Tchistovitch, Etudes sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. (Ann. Inst. Pasteur. 1899.) — 3) Bordet, Sur agglutination et dissolution des globules rouges. (Ann. Inst. Pasteur. 1899.) — 4) Ders., Les sérums hémolytiques, leurs antitoxins et les théories des sérums cytolytiques. (Ann. Inst. Pasteur. 1900.) — 5) Uhlenhuth, P., Neuer Beitrag zum spezifischen Nachweis von Eiweiß auf biologischem Wege. (Dtsch. med. Woch. 1900.) — 6) Jess, Mitteilungen über Immunisierungsversuche. (Ref. in der Naturf.-Versamml. 1901. Berl. tierärztl. Woch. 1901. No. 43.) — 7) Uhlenhuth, P., Die Untersuchung des Fleisches verschiedener Tiere mit Hilfe spezifischer Sera und die praktische Anwendung der Methode in der Fleischbeschau. (Dtsch. med. Woch. 1901. No. 45.) — 8) Schütze, A., Weitere Beiträge zum Nachweis verschiedener Eiweißarten auf biologischem Wege. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 38. 1901.) — 9) Uhlenhuth, P., Zur historischen Entwicklung meines forensischen Verfahrens zum Nachweis von Blut und Fleisch mit Hilfe spezifischer Sera. (Dtsch. tierärztl. Woch. 1903.) — 10) Ders., Weidanz, Technik und Methodik des biologischen Eiweißdifferenzierungs-Verfahrens, mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischdifferenzierung. Jena 1909. — 11) Weidanz, O., u. Borchmann, R., Vergleichende Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Präzipitin-Reaktion und der Komplementbindungsmethode zum Nachweis von Pferdefleisch. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt Bd. 28. 1908. H. 3.) — 12) Schüller, R., Der Nachweis von Pferdefleisch durch das biologische Verfahren. (Zeitschr. f. Fleisch- u.

Milchhyg. 1908. H. 2 u. 3.) — 13) Uhlenhuth, Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Jena 1905. — 14) Schütze, A., Ueber einige praktische Anwendungen der Präzipitine in der Nahrungsmittelchemie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 47. S. 151.) — 15) Uhlenhuth u. Steffenhagen, Die biologische Eiweißdifferenzierung mittels der Präzipitation, unter besonderer Berücksichtigung der Technik. (Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 3. 1913.) — 16) Gröning, G., Nachweis des Pferdefleisches durch ein spezifisches Serum. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1902. H. 1.) — 17) Fornet u. Müller, Zur Herstellung und Verwendung präzipitierender Sera, insbesondere für den Nachweis von Pferdefleisch. (Zeitschr. f. biol. Techn. 1908/1909.) — 18) Dies., Praktische und theoretische Präzipitinuntersuchungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. 1910. — 19) Windmüller, M., Untersuchungen über Nachweis des Pferdefleisches in Koch- und Bratwürsten mittels des biologischen Verfahrens. [Inaug.-Diss.]. Berlin 1912. — 20) Kyoyetsuro, Fujiwara, Hochkoaguliertes Serum als Präzipitogen. (Zeitschr. f. d. ges. gerichtl. Med. 1922.) — 21) Smith, Wallace, N., A simple fild method of producing a potent precipitin serum. — 22) Rostoski, Ueber den Wert der Präzipitinreaktion als Unterscheidungsmittel für Eiweiß. (Münch. med. Wochenschr. 1902.) — 23) Dungern, Ueber die Spezifität der Antikörperbildung. Jena 1904. — 24) Ders., Die Antikörper. Jena 1907. — 25) Hinze, Untersuchungen über den Nachweis von intravenös eingeführtem, artfremdem Eiweiß in der Blutbahn des Kaninchens mittels Präzipitation, Komplementbindung und Anaphylaxie. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. 1910.) — 26) Hamburger, F., u. v. Reuss, Die Folgen parenteraler Injektion von verschiedenen Eiweißkörpern. (Wien. klin. Wochenschr. 1904.) — 27) Nicolle, Césari, Debains, Etudes sur la précipitation mutelle des anticorps et des antigènes. Ann. Inst. Pasteur. 1920.) — 28) Manteufel, P., u. Beger, H., Untersuchungen über unspezifische Reaktion bei präzipitierenden Antiseren. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 33. 1921.) — 29) Rubinstein, M., Sur la précipitation des sérums hémolytiques. (Compt. Rend. Soc. de Biolog. 1918.) — 30) Rosanow, N. J., Einfluß von Unterernährung auf die Antikörperbildung. (Ref. a. d. 7. allruss. Bakt.- u. Epidemiol.-Kongr. Moskau 1923. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 76. 1924.) — 31) Kitt, Th., Allgemeine Pathologie. 1921. — 32) Bongert, J., Bakteriologische Diagnostik der Tierseuchen. 1922. — 33) Ostertag, R. v., Handb. d. Fleischbeschau. 1922. — 34) Manteufel, P., u. Tomioka, J., Ueber die Benützung von Fleisch an Stelle von Serum als Antigen usw. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. H. 5.)

Ueber die Fähigkeit der Tiere vom Kaninchentypus heterogene Antikörper zu bilden.

[Aus dem wissenschaftlichen Institut für mikrobiologische Untersuchungen des Volksunterrichtskommissariats (Direktor: Prof. Dr. I. L. Kritschewsky).]

Von Prof. **I. L. Kritschewsky.**

Entsprechend der Fähigkeit, heterogene Antikörper zu bilden, können bekanntlich alle Tiere in 2 Gruppen eingeteilt werden: 1) Tiere vom Kaninchentypus, welche die Fähigkeit besitzen, heterogene Antikörper zu bilden, aber dieselben in ihren Organen nicht enthalten; 2) Tiere vom Meerschweinchentypus, die zwar heterogene Antigene besitzen, aber bei der Immunisierung mit denselben keine solche bilden.

Während diese Eigenschaften bei Tieren vom Meerschweinchentypus durch Doerr und Pick[1]), Forssman[2]), Amako[3]), Tsuneoka[4]) und hauptsächlich von Friede[5]) ausgiebig er-

Nr. des Tieres	Gewicht in g	Immunisierende Erythrocytenart und Protokoll der Immunisierung	Titerbestimmung der Hämolyse mit: Hammelerythrozyten					Hühnererythrozyten				
			0,04	0,02	0,01	0,005	0,004	0,04	0,02	0,01	0,005	0,0[illegible]
1	120	Hühnererythrozyten: 3. 10. 0,25 ccm; 10. 10. 0,5 ccm; 20. 10. entblutet	0	0	0	0	0	0	S. H.	S. H.	S. H.	0
2	110	Hammelerythrozyten: Immunisiert und entblutet wie bei Nr. 1	S. H.	0	0	0	0	u. H.	u. H.	u. H.	0	0
3	175	Hühnererythrozyten: 3. 10. 0,5 ccm; 10. 10. 1,0 ccm; 20. 10. entblutet	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	115	Hammelerythrozyten: Behandlung wie Nr. 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	110	Hammelerythrozyten: Behandlung wie b. Nr. 3	S. H.	f. Co	S. H.	0	0	0	0	0	0	0
6	Gemisch v. 5 Ratten 1. 150 g, 2. 150 g, 3. 125 g, 4. 107 g u. 5. 112 g	Hammelerythrozyten: 3. 10. 0,5 ccm; 12. 10. 0,5 ccm; 19. 10. 1,0 ccm; 27. 10. entblutet	u. H.	S. H.	0	0	0	0	0	0	0	0
7	110	Hammelerythrozyten: wie bei Nr. 6	u. H.	u. H.	0	0	0	u. H.	u. H.	S. H.	0	0
8	Gemisch v. 5 Ratten 1. 100 g, 2. 170 g. 3. 160 g, 4. 107 g u. 5. 70 g	Hühnererythrozyten: wie bei Nr. 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	125	Hammelerythrozyten: 3. 10. 0,25 ccm; 10. 10. 0,5 ccm; 20. 10. entblutet	f. Co	u. H.	0	0	0	Co	f. Co	u. H.	u. H.	0
10	165	Hühnererythrozyten: wie bei Nr. 9	0	0	0	0	0	f. Co	u. H.	S. H.	S. H.	[illegible]
11	120	Hammelerythrozyten: wie bei Nr. 10	Co	Co	Co	f. Co	0	Co	u. H.	u. H.	u. H.	[illegible]
12	145	Hühnererythrozyten: wie bei Nr. 11	u. H.	u. H.	S. H.	0	0	Co	f. Co	u. H.	u. H.	[illegible]
13	120	Hühnererythrozyten: wie bei Nr. 12	0	0	0	0	0	0	S. H.	S. H.	S. H.	[illegible]
14	90	Hühnererythrozyten: wie bei Nr. 13	0	0	0	0	0	Co	Co	u. H.	S. H.	[illegible]
15	160	Hühnererythrozyten: wie bei Nr. 14	u. H.	u. H.	u. H.	S. H.	0	Co	f. Co	u. H.	u. H.	[illegible]
16	110	Hammelerythrozythen: wie bei Nr. 15	u. H.	u. H.	0	0	0	Co	f. Co	u. H.	S. H.	[illegible]

Co = komplette Hämolyse. f. Co = fast komplette Hämolyse. u. H. = unvollständige Hämolyse. S. H. = Spuren von Hämolyse. 0 = keine Hämolyse.

1) Doerr u. Pick, Biochem. Ztschr. Bd. 60.
2) Forssman, Ibid. Bd. 77.
3) Amako, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 22.
4) Tsuneoka, Ibid. Bd. 22.
5) Friede, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925.

forscht worden sind, wobei eine Gesetzmäßigkeit festgestellt werden konnte, ist dies bei den Tieren vom Kaninchentypus nicht der Fall gewesen. Bei den letzteren war man mehr auf Vermutungen als auf Gesetzmäßigkeiten angewiesen, da, außer beim Kaninchen, bis jetzt niemand den Versuch machte, diese Erscheinungen bei anderen Tieren der Gruppe, die keine heterogene Antigene besitzen, zu untersuchen.

Vorliegende Arbeit soll dazu dienen, diese Lücke auszufüllen. Als Versuchsobjekt wählten wir die weiße Ratte, die bekanntlich keine heterogenen Antigene enthält.

Die Ratten wurden entweder mit Hammelblutkörperchen [die verschiedene heterogene Antigene, unter anderen auch Hühnerantigen, besitzen[1])] oder mit Hühnererythrozyten [die unter anderen heterogenen Antigenen auch das Hammelantigen besitzen[2])], immunisiert, und zwar durch Injektionen der betreffenden Blutkörperchen in die Bauchhöhle.

Nach einer bestimmten Zeit nach der letzten Injektion (siehe Tabelle) wurden die Ratten entblutet. Das Serum wurde durch $^1/_2$stünd. Erhitzen auf 56° inaktiviert und gegen Hammel-, Hühner- und Kaninchenblutkörperchen untersucht (0,5 ccm des zu prüfenden Serums, 0,5 ccm Meerschweinchenkomplement 1:10 und 0,5 ccm einer 5proz. Blutkörperchensuspension — Gesamtvolumen in Haupt- und Kontrollversuchen 1,5 ccm[3])].

Somit wurde das Serum einer jeden Ratte auf den Gehalt an homologischem und heterogenem Hämolysin geprüft, wobei noch zur Kontrolle auf den Gehalt an Hämolysin für den gleichen „serologischen Typus" [Kaninchenerythrozyten[4])] untersucht wurde.

Vor der Immunisierung wurde das inaktivierte Serum eines jeden Tieres (24 Ratten) auf den Gehalt an Hämolysin gegen Hammel- und Hühnererythrozyten geprüft, wobei solches nie gefunden wurde, auch bei 0,04 ccm des Serums.

Diese Resultate (s. Tabelle) führen zu dem Schluß, daß die Ratte sehr schlecht Antikörper gegen zelluläre Elemente bildet[5]), da 7 Tiere auf die Immunisation mit Erythrozyten überhaupt nicht reagierten und die übrigen so wenig Hämolysine bildeten, daß keine einzige der Ratten bei 0,004 ccm Hämolyse aufwies; nur in 1 Fall ergab 0,01 ccm Serum vollständige Auflösung der Erythrozyten.

Indessen zeigten aber die Ratten, wie auch a priori zu erwarten war, eine Aehnlichkeit mit dem Kaninchen, indem sie **sich als fähig erwiesen, bei der Immunisierung mit Hammel- und Hühnererythrozyten heterogene Hämolysine zu bilden** (7 Tiere).

---

1) Kritschewsky, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 36.

2) Kritschewsky, Journ. of Experim. Med. Vol. 24.

3) Kontrollversuche: 1. Aktivitätsprüfung des Komplements mit hämolytischem Serum von hohem Titer (nicht weniger als 1000 HE.). 2. Prüfung des Komplementes auf Hämolyse ohne Zusatz von hämolytischem Serum. 3. Prüfung des zu untersuchenden Rattenserums ohne Komplement und 4. Prüfung der Blutkörperchen auf ihre Intaktheit.

4) Da keine der immunisierten Ratten Kaninchenhämolysin besaß, so führen wir dieses in der Tabelle nicht mehr an.

5) Das bezieht sich auch gegen Hämoagglutinine.

Das Fehlen von Hämolysinen gegenüber den Kaninchenerythrocyten weist aber darauf hin, daß die heterogenen Antikörper durch entsprechende Antigene hervorgerufen wurden und nicht durch andere Faktoren[1]) (siehe Tabelle).

In 5 Fällen (bei 10 Ratten) zeigte sich keine Bildung von heterogenen Hämolysinen, obgleich homologe Hämolysine vorhanden waren. Es ist höchst wahrscheinlich, daß das infolge der schwachen Bildung von Hämolysinen bei den Ratten überhaupt der Fall war.

Zusammenfassung.

Ratten, ähnlich wie die Kaninchen, gehören zu denjenigen Tieren, welche in ihrem Körper keine heterogenen Antigene enthalten, aber die Fähigkeit besitzen, heterogene Antikörper zu bilden.

Neue automatische Abfüllvorrichtung zur keimfreien Einfüllung von Nährmaterialien, Serum, Impfstoffen u. dgl.

Von Dr. A. Möller.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Im „Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk." Bd. 52. 1925. H. 3, habe ich die nach meinen Angaben konstruierte automatische Injektionsspritze beschrieben. Dieser Apparat gewährleistet nicht nur eine sterile Applizierung des Materials, sondern vereinfacht und beschleunigt nicht unwesentlich das Injektionsgeschäft. Die Spritze hat sich in der tierärztlichen Praxis bei Massenimpfungen hervorragend bewährt (Bach, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1925. No. 13. — Zehl u. Tiarks, Ibid. 1925. No. 38. — Mögele, Münch. tierärztl. Wochenschr. 1925. No. 28).

Das inzwischen zum Patent angenommene Prinzip der Spritze habe ich auf eine Abfüllvorrichtung zur keimfreien Einfüllung von Nährmaterial, Serum, Impfstoffen u. dgl. übertragen, diese Apparate sind nach Angabe der Herstellungsfirma: Paul Altmann, Berlin, Luisenstr. 47 bereits von einer Reihe von Seruminstituten in Gebrauch genommen worden und haben sich auch hier sowohl zum Abfüllen von Serum als auch von Kultur sehr bewährt.

Alle bisher im Handel befindlichen Abfüllapparate genügten nicht, um genau zu dosieren und schnell ohne Substanzverlust automatisch abfüllen zu können.

---

1) Die unbedeutende Menge von Antikörpern und ihre schwache Aktivität zwangen dringend zu einem Versuch, wobei diese Antikörper gegenüber den Kaninchenerythrozyten geprüft und die eventuelle Anwesenheit normaler Hämolysine in Betracht gezogen werden mußte.

Vorliegende neue Abfüllvorrichtung erfüllt alle Bedingungen. Sie funktioniert völlig automatisch, jede Quantität kann sicher und ohne Verlust abgemessen und abgefüllt werden, sie ist leicht und übersichtlich zu handhaben. Das Abfüllen geschieht völlig steril.

Beistehende Abbildungen zeigen die Apparatur im Gebrauch, und zwar zeigt die Ausführung auf Abbildung 1 den Abfüllapparat in

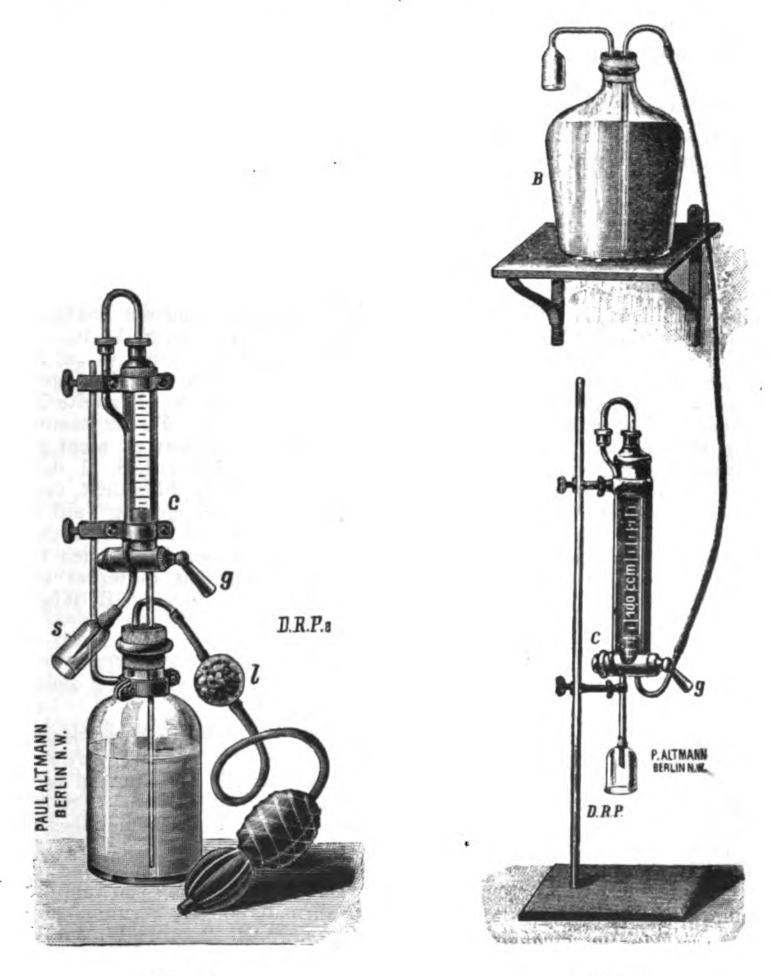


Fig. 1. Fig. 2.

Verbindung mit einer Flasche, auf welche beim Abfüllen ein Druck aus einem Gummigebläse gegeben wird. Bei der Ausführung gemäß Abbildung 2 wird der Druck nicht durch ein Gummigebläse, sondern durch das Gefälle bewirkt. Man sieht einen höher gestellten Ballon, aus welchem durch Gefälle die abzufüllende Flüssigkeit in den Apparat hineinläuft.

Die Abfüllvorrichtung selbst stellt im wesentlichen eine Glasröhre in Metallfassung dar, in welche ein Metallkolben luftdicht eingeschliffen

ist. Der daran befindliche Metallhahn mit Griff *g* ist derart gebohrt, daß bei der einen seitlichen Griffstellung die Flüssigkeit aus dem Vorratsgefäß in die Glasröhre eindringt und dabei den Metallkolben vorwärts bewegt. Die vor dem Metallkolben befindliche Flüssigkeit wird somit herausgedrängt und kann sofort in das Aufnahmegefäß abgefüllt werden.

Durch einfache Drehung des Griffhebels *g* nach der anderen Seite, also um 45 ^{0}, tritt die Flüssigkeit aufs neue, und zwar jetzt von vorne in die Glasröhre und bewegt in umgekehrter Weise den Metallkolben, dabei ebenfalls wieder die gleiche Menge entleerend. Durch Parallelstellung des Griffes *g* mit der Glasröhre wird der Zu- und Abfluß sofort angehalten. Die ganze Apparatur ist bequem auseinanderzuschrauben und leicht zu sterilisieren.

Berichtigung

zur Arbeit von E. Löffler und R. Rigler: „Ueber die Atmung der Bakterien durch Methylenblaureduktion", Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 99. S. 1—16.

Als Ueberschrift der linken Kurvenschar auf S. 8 der Arbeit hat es „a) Zuckerreduktion" zu lauten, desgleichen auf S. 15, dritte Zeile des Kleingedruckten „B. faecalis alcaligenes". Weiters in der Fußnote auf S. 11, zweite Zeile von unten anstelle von Bioch. Jahrb. „Bioch. Journ." zu setzen. Ferner kommt in der Darstellung die gedankliche Verbindung zwischen Text und Kurven nicht genügend zum Ausdruck, weshalb zur Orientierung angeführt sei, daß auf S. 11 der Absatz „Hier wie bei den folgenden Versuchen" sich auf Kurve 4, B. typhi bezieht, desgleichen auf derselben Seite der Absatz „Verhältnismäßig schwache Steigerung" auf Kurve 5, B. paratyphi A. Der übrige Text wird verständlich, wenn man die Kurvenhinweise (von Kurve 6 an) nicht auf den vorausgegangenen, sondern jeweils auf den folgenden Absatz bezieht. In der Beschriftung der einzelnen Kurven hat es ferner zu lauten „3:1, 45 γ Mb."

R. Rigler.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5511

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 99. Heft 7/8.

Ausgegeben am 20. September 1926.

Ueber ein neues menschenpathogenes Kapselbakterium.

[Aus dem pathologischen Institut der deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. Dr. Anton Ghon).]

Von **Erik Johannes Kraus.**

Bei der Sektion eines $4^1/_2$ Monate alten Knaben aus der Kinderklinik der deutschen Universität (Vorstand Prof. Dr. Fischel) fand sich im Eiter eines in den Seitenventrikel durchgebrochenen Stirnhirnabszesses sowie im Eiter der dadurch erfolgten Meningitis ein Kapselbakertium, das, soviel ich der Literatur, die mir zur Verfügung stand, entnehmen konnte, bisher nicht beschrieben zu sein scheint.

Der Beschreibung des Keimes sei ein Auszug aus dem pathologisch-anatomischen Befund des Falles vorausgeschickt.

Die von Prof. Dr. Ghon vorgenommene Sektion des Kindes ergab nachstehende pathologisch-anatomische Diagnose:

Haselnußgroßer Abszeß in der Marksubstanz des linken Stirnlappens mit pyogener Membran in Verbindung mit dem Vorderhorn des linken Seitenventrikels. Chronischer Pyocephalus und chronische eitrige Meningitis mit Veränderungen von Ausheilung. Oedem des Gehirns. Empyem der rechten Thoraxhälfte mit Kompressionsatelektase der Lunge. Mehrere bis erbsengroße Abszesse in den Lungen und konfluierte Lobulärpneumonie im Stadium der grauen Hepatisation in der rechten Lunge. Degeneration des Myocards, der Leber und Nieren. Pigmentierung der Follikel im Dickdarm.

Makroskopischer Hirnbefund: An der Konvexität des Großhirns finden sich in der Leptomeninx weißliche, streifenförmige Verdickungen im Bereich der Sulci, an der Basis hingegen erscheint die Leptomeninx frei von besonderen Veränderungen, ebenso in den Sylvischen Furchen und im Bereich der Cisterna chiasmatis. Nur in der Umgebung des Foramen Magendi ist die Cisterna cerebello-medullaris von dickem, leicht orangegelben Eiter erfüllt. Auf einem horizontalen Schnitt durch das Gehirn erscheinen die Seitenventrikel stark ausgedehnt und erfüllt mit reichlichen Mengen visziden, gelben Eiters, der in reichlicher Menge auch der Wand der Ventrikel aufliegt. Im linken Stirnhirn liegt eine etwa haselnußgroße Höhle mit deutlich gelblich verfärbter pyogener Membran, die mit dem Vorderhorn der linken Seite kommuniziert. Die Plexus chorioidei laterales sind eingescheidet in dicke Eitermassen. Auch der IV. Ventrikel ist von Eiter erfüllt und erscheint ausgekleidet von einer pyogenen Membran.

Bakteriologische Untersuchung.

Ausstriche vom Exsudat der Bronchitis zeigen neben grampositiven runden Kokken in Ketten und grampositiven Stäbchen, die vielfach zu Fäden angeordnet sind, in mäßiger Menge gramnegative Stäbchen mit mächtiger Schleimkapsel. Im Empyem finden sich ausschließlich und sehr reichlich die letzterwähnten gramnegativen Kapselbakterien, ebenso im Eiter der Hirnventrikel und der Leptomeninx.

Das Stäbchen, das keine Beweglichkeit zeigt, bildet in der ersten Generation auf Drigalski-Platten nach 24 Std. große, weißliche,

schleimige, halbkugelige Kolonien; der Nährboden unter den Kolonien und in der Nachbarschaft erscheint unverändert, nur dort, wo die Kolonien dicht stehen und zu einem kontinuierlichen Rasen konfluieren, ist der Nährboden unter dem Rasen eine Spur gerötet. Nach 48 Std. sind die Kolonien eine Spur rosa. Einen anderen, offenbar weniger alkalischen Drigalski rötet das Bakterium nach 24 Std. deutlich.

Da die Kolonien ungemein groß werden und bei einer halbwegs größeren Zahl auf der Platte binnen kurzer Zeit zu einem dicken Rasen zusammenfließen, wurden die Platten vielfach derart beimpft, daß mittels einer eminent feinen Platinnadel eine Spur des Bakterienrasens durch einen Einstich in die Oberfläche des Nährbodens verimpft wurde. — Auf Drigalski sieht man dann schon nach 4 Std. eine runde, grauweiße, glänzende Kolonie, die nach 8 Std. über 2 mm Durchm. beträgt und eine Spur rosa erscheint; doch kann selbst nach 15 Std. der rosa Farbton noch fehlen und erst nach 24 Std. auftreten, zu einer Zeit, wo die Kolonien schon 0,5 cm breit sind. Nach 40 Std. sind die Kolonien bis 8 mm im Durchmesser, porzellanähnlich, im Zentrum grauweißlich und undurchsichtig, an der Peripherie bläulichgrau. Nach 48 Std. tritt im Zentrum ein graugelblicher Schimmer auf, nach 54 Std. ist das Zentrum deutlich graugelblich, während die Kolonie gegen den Rand zu mehr grau erscheint. Der Durchmesser der Kolonie beträgt bereits 1 cm. Nach 4 Tagen sind die Kolonien noch größer, sonst unverändert. In den nächsten Tagen tritt der gelbe Farbton immer stärker hervor. In Kolonien, die 1 Woche alt sind, treten innerhalb der gelben schleimigen Masse verschieden große, graue, rundliche, fast tropfenähnliche, sehr transparente Stellen auf, die in den nächsten Tagen größer werden und zusammenfließen, bis endlich die ganze Kolonie in eine graue, transparente, zerfließliche Schleimmasse umgewandelt ist. Der Drigalskische Nährboden erscheint hierbei graublau verfärbt, von saurer Reaktion ist nichts mehr nachweisbar. Noch bevor die Kolonien sich so verändern, zeigen sie eine exquisite Neigung zum Abtropfen, so daß das Aufbewahren der umgedrehten Platten im Brutschrank oft zur Verunreinigung der Schalendeckel führt.

Läßt man analog beimpfte Drigalski-Platten bei Zimmertemperatur stehen, so kann man beobachten, daß die nach einem Tag bis 3 mm breiten Kolonien grauweißlich, glatt und glänzend sind, nach 3 Tagen dagegen eine deutlich morulierte Oberfläche zeigen, im durchfallenden Licht eine Spur rosa, im auffallenden Licht aber gelblich und ziemlich opak erscheinen. Nach 6 Tagen messen die Kolonien bis 8 mm im Durchm., erscheinen bernsteingelb, springen halbkugelig vor und besitzen eine grobmorulierte Oberfläche. Nach 8 Tagen sind sie bis 1 cm breit, hoch, stark gebuckelt, mattglänzend und bernsteingelb bis dottergelb.

Auf Nähragar entstehen bei 37° schleimige, opake, schmutzig grauweiße Kolonien, die nach 4 Tagen bis 1 ccm groß sind, glatt, glänzend, relativ flach und graugelblich erscheinen. Sie sind nur wenig transparent und zeigen im durchfallenden Licht eine eigentümliche netzförmige Zeichnung, wobei die Maschen dieses Netzwerkes nach der Peripherie zu enger werden. Bei Zimmertemperatur werden die Kolonien im Laufe von 5 Tagen glatt, glänzend, dottergelb und bleiben so unverändert durch mehrere Tage, bis Vertrocknungserscheinungen auftreten.

Auf Lackmus-Mannit-Agar sieht man nach ein bis wenigen Tagen offenbar abhängig vom Alkaligehalt des Nährbodens eine Spur bis deutliche Rötung, ebenso auf Lackmus-Maltose- und Lackmus-Sacharose-Agar. — In Traubenzucker-Agarröhrchen entsteht reichliche Gasbildung. — Lackmusmolke wird nach 24 Std. rot und trüb, ohne sich innerhalb von 5 Tagen zu verändern. — Milch gerinnt regelmäßig in 3 Tagen. — In Gelatineröhrchen tritt nach 3—4 Tagen röhrenförmige Verflüssigung im Bereich des Stichkanals auf. — In Peptonwasser ist nach 1 Woche keine Indolbildung mittels der Methoden von Ehrlich und Adamkiewicz nachweisbar. — Bouillon wird nach 48 Std. sehr stark getrübt und zeigt einen dicken, weißen, schleimigen Rand, weiße Kahmhaut und reichlich Satz. — Auf Glyzerinkartoffel entsteht ein schleimiger, glänzender, gelblicher Rasen. — Hämolyse geprüft auf Blutagarplatten fällt negativ aus. — Anaerobe Kultur in Traubenzuckeragar (hohe Schicht) ergibt reichliches Wachstum mit starker Gasbildung.

Aus frischen Kulturen der 1. Generation hergestellte Abstriche, die nach dem Burrischen Tuscheverfahren behandelt worden sind, zeigen Schleimkapseln in sehr anschaulicher Weise und stärker entwickelt, als sie in den bei der Sektion gewonnenen Abstrichen zu sehen waren. Mehr als ein Jahr alte, in der Zwischenzeit nur selten überimpfte Kulturen zeigen ein viel weniger üppiges Wachstum, die Kolonien erscheinen opaker, dichter, ein Teil glänzend, ein Teil feinst chagriniert und dadurch weniger glänzend.

Impft man von den oben erwähnten grauen, transparenten Flecken älterer Kolonien oder von einer alten, völlig grau gewordenen Kolonie ab, dann entstehen nach 24 Std. grauweiße, schleimige, üppige, glänzende Kolonien, die im durchfallenden Lichte eine Spur rosa erscheinen, nach 3 Tagen über 1 cm im Durchmesser betragen und ein großes, graugelblichweißes Zentrum erhalten. Nach 4 Tagen zeigt sich im Zentrum eine Andeutung von Ringbildung in grauen und graugelblichen Tönen, während die Peripherie grauweißlich und homogen erscheint. Nach 5 Tagen sind die Kolonien ca. 2 cm im Durchmesser, der gelbe Farbenton verschwindet, die Kolonien sind jetzt von grauer Farbe und zeigen eine schöne Ringbildung gleich einem geschliffenen Achat. Nach 6 Tagen ist die Ringbildung in verschiedenen Nuancen von Grau besonders schön ausgeprägt, während die mehr grauweiße Randzone eine radiäre Fältelung erhält. Nach 9 Tagen verschwimmt die schöne Zeichnung, die ca. 2,5 cm breiten Kolonien erscheinen gleichmäßig grau und transparent.

Impft man von älteren, gelben, bei Zimmertemperatur gehaltenen Kolonien ab, so entstehen nach 1—2 Tagen Kolonien, die weniger üppig sind, kleiner und niedriger erscheinen und schon nach 24 Std. dichte weiße, opake Pünktchen enthalten. Die Kolonien gleichen dem gewöhnlichen Typus mit etwas dichterem, graugelblichen Zentrum und wenig durchsichtiger, grauer Peripherie. Nach 48 Std. zeigen die weißen Pünktchen oft eine Andeutung von Radiärstellung und ragen manchmal ganz kleinwenig über die Oberfläche der Kolonien, so daß dieselbe feinst granuliert erscheint. Am 2.—3. Tage sieht man im Zentrum etwas größere, gelblich opake, dichtstehende Fleckchen, die gegen die Peripherie von kleinen, rein weißen, punktartigen Flecken, die eine radiäre Anordnung zeigen, abgelöst werden. Nach 4 Tagen

beginnen die weißen Pünktchen undeutlich zu werden oder zu verschwinden, wobei man dann nur noch im Zentrum die größeren, gelblich opaken Fleckchen durchschimmern sieht. Die Oberfläche der Kolonien ist wieder glänzend und glatt geworden. Nach 5 Tagen sind diese Kolonien weniger üppig als die grauen und zeigen keine Ringbildung, hingegen ein Zentrum, das aus dichten, gelben, opaken Fleckchen zusammengesetzt ist. Nach 8 Tagen erscheinen diese Kolonien weniger breit als die grauen, zeigen jedoch keine regelmäßige Zeichnung, indem die Farben ungleich ineinanderfließen, wobei die gelben, opaken, punktförmigen Fleckchen verschwinden. Nach 9 Tagen ist die Zeichnung der Kolonien gänzlich verschwommen, der Unterschied zwischen diesen Kolonien und den gelben aufgehoben.

Da die große Veränderlichkeit der Kolonien eine der hervorstechendsten Eigenschaften des Stammes ist, wurde dieselbe hier etwas eingehender gewürdigt.

Mutationsversuch.

Aus einer 9tägigen Bouillon wachsen auf Drigalski neben wenigen normalen Kolonien viele Zwergkolonien, die weiß, opak und fein moruliert erscheinen und mikroskopisch ganz bizarr gezeichnet sind, wobei die Zeichnung teils durch Ringbildung, teils durch feine rundliche Höckerchen an der Oberfläche bedingt ist. Nach 4 Tagen sind diese Kolonien matt glänzend, wenig saftig, feinhöckerig, opak, hellgelb, mit einem grauen, mehr oder weniger transparenten, flachen, ganz zart radiär gefältelten Saum. Selbst bei dichter Aussaat zeigen die bis 4 mm im Duchmesserr haltenden Kolonien keine Tendenz zur Konfluenz, was in einem strengen Gegensatz zu dem Verhalten des normalen Kolonientypus steht. Nach 6 Tagen zählen die Kolonien bis 6 mm im Durchmesser, zeigen im Zentrum eine halbkugelig hervorragende gelbe, wachsartige Kuppe und einen breiten, sehr zart radiär gefältelten, flach abfallenden, gelblichgrauen Saum, der am Rand gelappt erscheint.

Durch Einstich in Drigalski-Platten erzeugte Kolonien sind nach 3 Tagen 7—8 mm breit (während die vom normalen Typus 15 mm betragen) und besitzen ein granuliertes, deutlich prominentes, opakes Zentrum von 2—3 mm Durchmesser und einen breiten, graugelblichen, etwas durchscheinenden, ziemlich flachen, peripheren Saum. — Eine 5 Tage alte, durch Einstich erzeugte Kolonie mißt auf einer Drigalski-Platte ca. 11 mm im Durchmesser, hat ein kleines, knopfartig vorspringendes, mattglänzendes, eigelbes, granuliertes Zentrum und anschließend eine flache, hellgelbe Zone mit Andeutung von Ringbildung und eine graue, etwas transparente, ganz zart radiär gefurchte Randzone aus terrassenförmig abfallenden Ringen.

Eine 60 Tage alte Bouillonkultur des normalen Stammes, auf Drigalski-Platten ausgesät, liefert neben normalen (wenngleich weniger üppigen und weniger schleimigen und weniger transparenten, dafür mehr opaken) Kolonien reichliche Zwergkolonien. Legt man von einer solchen Zwergkolonie eine Bouillonkultur an und streicht sie nach 30 Tagen auf Drigalski-Platten, so erhält man neben vielen gewöhnlichen (glatten und stark glänzenden) Kolonien mit transparentem, grauen Rand, eine geringe Zahl von Zwergkolonien mit mattglänzender, morulierter Oberfläche, Kolonien, die erst später

etwas üppiger und glänzender werden. Diese Zwergkolonien wachsen langsamer als die normalen, die nach 3 Tagen $5^1/_2$ mm im Durchmesser erreichen, ziemlich stark glänzen, in der Mitte opak gelbweiß, an der Peripherie grau und transparent sind.

Die große Veränderlichkeit des Keimes in seinem kulturbiologischen Verhalten geht unter anderem aus folgendem Ueberimpfungsversuch hervor: während die Aussaat einer 1tägigen Bouillonkultur, die von einer typischen Zwergkolonie angelegt worden war, auf Drigalski nach 2 Tagen (bei 37°) neben vereinzelten, mattglänzenden, feinst granulierten Kolonien vorwiegend grauweiße, glänzende, bis 2,5 mm breite, im Zentrum opake und am Rande mehr grau und ein wenig transparente Kolonien ergibt, entstehen nach Aussaat einer 3-tägigen Bouillon, die von einer Zwergkolonie angelegt worden war, auf Drigalski nach 3 Tagen (bei 37°) durchwegs ca. 2 mm breite, matte feinhöckerige, intensiv gelbe Kolonien mit schmalem, grauem, etwas flach abfallendem, radiär gefälteltem und feingelapptem Saum.

Streicht man von einer frisch auf Schrägagar gezüchteten Zwergkolonie eine Drigalski-Platte, so erhält man zweierlei Kolonien:

1) kleine, nach 24 Std. höchstens grieskorngroße, weiße, opake, deutlich granulierte, knopfartig vorspringende, kümmerliche Kolonien, die nach 48 Std. größer und im Zentrum gelb werden. Dieselben verlieren allmählich die Granulierung, ihre Oberfläche glättet sich, sie werden üppiger, erhalten einen größeren Glanz, wobei das opake, hellgelbe Zentrum mattglänzend, der das Zentrum umgebende Rand grau und stark glänzend erscheint;

2) größere, weiße, mehr glatte und glänzende, üppigere Kolonien, die jedoch nach 3—4 Tagen gegenüber den unter 1) geschilderten keinen Unterschied mehr erkennen lassen.

Untersucht man Ausstrichpräparate von kleinen morulierten gelben Zwergkolonien nach Färbung mit Loefflers Methylenblau, so erhält man auffallend kurze Stäbchen, die dicht beisammen liegen und nur wenige Stäbchen, die durch ihre viel größere Länge und Schlankheit auffallen und zwischen den kurzen Stäbchen eigestreut sind. — Die üppigen, glänzenden, grauweißlichen (normalen) Kolonien bestehen hingegen so gut wie durchweg aus den längeren, schlanken Stäbchen, die jedoch nicht durchweg von gleicher Länge sind, und im Gegensatz zu den Stäbchen der Zwergkolonien durch eine stärkere Entwicklung der Schleimkapseln weniger dicht beisammen liegen.

Besät man mit dem Rasen einer 1 Jahr alten Schrägagar-Kultur des normalen Typus eine Drigalski-Platte, so erhält man gleichfalls zweierlei Typen von Kolonien:

1) grauweiße bis dottergelbe und undurchsichtige Kolonien (und zwar grauweiß in den dicht gestrichenen Teilen, gelb dort, wo die Aussaat spärlich erfolgt ist), und 2) gelbe, runzelige Zwergkolonien.

Von einer 1jährigen Zwergkultur auf Schrägagar erhält man auf Drigalski gleichfalls beide Kolonientypen. —

Die bakteriologische Bestimmung des durch Mutation gewonnenen Zwergstammes ergibt:

Verhalten gegen die Färbung nach Gram	**negativ.**
Kapselbildung	**in Präparaten nach Burri nicht nachweisbar.**
In Traubenzuckeragar	**Gasbildung.**
In Gelatine	**Verflüssigung.**

Lackmusmolke . . . . durch viele Tage Trübung und Rötung.
Milch . . . . Gerinnung.
Drigalskiplatten . . . . . Kolonien nach 1 Tag grauweißlich-rosa, der Nährboden unter den Kolonien rosa, nach 4 Tagen Kolonien grauweißlich bis graugelblich, manchmal geradezu eigelb, nach 6 Tagen grau, ziemlich transparent.
Lackmusannitagar, Lakmusmaltoseagar, Lackmussacharoseagar . . . . nach 1 Tag schwache Rötung.
Auf Glyzerinkartoffeln . . . . graugelblicher, mattglänzender Rasen.

Es besteht somit der wesentlichste Unterschied zwischen dem Normaltypus und dem Zwergtypus in dem Verlust der Schleimkapsel und dem in erster Linie dadurch veränderten Aussehen der Kolonien, während die chemischen Leistungen beider die gleichen sind. —

Daß das Wachstum auf den verschiedenen Nährböden mit dem Alter des fraglichen Stammes eine Veränderung erfährt, sei nur nebenbei erwähnt. Nach $1^1/_4$ Jahren waren bei ab und zu erfolgter Ueberimpfung in der Zwischenzeit die Kolonien auf Drigalski viel weniger üppig, viel weniger schleimig, opaker, dichter, teils glänzend, teils infolge feinster Chagrinierung weniger glänzend. Alte Schrägagarkulturen (ca. $^1/_2$ Jahr) auf Drigalski überimpft, zeigen weit geringeres Wachstum als es der Stamm in den ersten Generationen gezeigt hat; die Kolonien erscheinen weiß, dicht, opak, teils glatt, teils fein moruliert. Es nimmt somit nicht nur die Ueppigkeit der Kolonien mit dem Alter der Kultur bzw. des Stammes ab, sondern auch die Kapselbildung, wodurch der schleimige Charakter, das Fließen der Kolonien und ihre Transparenz starke Einbuße erleidet, ja — ebenso wie im Mutationsversuch — völlig verloren geht.

Tierexperiment.

Kaninchen:

1 Kaninchen erhält 1 ccm einer mäßig dichten Aufschwemmung einer 24stünd. Schrägagarkultur in physiologischer Kochsalzlösung subkutan und bleibt am Leben.

1 Kaninchen erhält 2 ccm der gleichen Aufschwemmung intravenös und stirbt nach 24 Std. Die Sektion ergibt Anschoppungsherde in den Lungen.

1 Kaninchen von 840 g Gewicht erhält 1 ccm einer ziemlich dichten Aufschwemmung intravenös. Nach der Injektion nasse Schnauze, nasses Fell am Bauch und den Beinen, Verfall, beschleunigtes Atmen. Nach 48 Std. Exitus. Die Sektion ergibt allgemeine Atrophie und Anämie.

Meerschweinchen:

1 Meerschweinchen erhält 0,5 ccm einer mäßig dichten Aufschwemmung einer 24stünd. Schrägagarkultur subkutan und erkrankt an einem hämorrhagisch-eitrigen Infiltrat an der Impfstelle.

1 Meerschweinchen erhält 1,5 ccm Aufschwemmung intraperitoneal und geht nach 24 Std. an einer diffusen Peritonitis zugrunde. Das Peritoneum erscheint gerötet, in der Bauchhöhle findet sich dünnes, fadenziehendes Exsudat.

1 Meerschweinchen erhält intraperitoneal 0,5 ccm einer dichten Aufschwemmung einer 24stünd. Schrägagarkultur der durch Mutation

gewonnenen Zwergform und stirbt an serös-fibrinöser, stellenweise hämorrhagischer, Peritonitis, nachdem 0,1 ccm einer ganz dünnen Aufschwemmung ohne Wirkung geblieben war.

Ein aus der Meerschweinchenleiche gezüchteter Stamm rötet nach 48 Std. Drigalski ziemlich stark, eine Eigenschaft, die der längere Zeit auf künstlichen Nährböden gezüchtete Stamm immer mehr und mehr einbüßt.

Maus:

1 Maus erhält 0,3 ccm einer mäßig dichten Aufschwemmung einer 24stünd. Schrägagarkultur subkutan, ohne erkennbar zu erkranken, hingegen töten 0,1 ccm intraperitoneal appliziert das Tier nach 24 Std.

Immunisierungsversuch und Agglutination.

1 Kaninchen erhält in einem Zeitraum von 17 Tagen 3 intravenöse Injektionen des durch 60 Minuten hindurch bei 56° gehaltenen und abgetöteten Stammes und zwar in Dosen von 0,5 ccm bis 2 ccm bei ziemlich dichter Aufschwemmung. Nach 17 Tagen fällt die Agglutination des homologen Stammes durch das Serum des so behandelten Kaninchens bei einer Serumverdünnung von 1:25 negativ aus. Danach erhält dasselbe Tier in einem Zeitraum von 32 Tagen 4 intravenöse Injektionen des virulenten Stammes in den Mengen von 0,1 ccm bis 2 ccm ohne Krankheitszeichen zu verraten. — 4 Tage nach der zweiten Injektion virulenter Keime agglutiniert das Serum des Tieres den homologen Stamm deutlich bis zu 1:6000. 6 Tage nach der letzten Injektion jedoch nur 1:1000, obwohl sehr deutlich. — Einen echten Friedländer-Stamm und einen Stamm von Bacterium lactis aerogenes agglutiniert dies Serum bei einer Verdünnung von 1:50 nicht. — Von einem Friedländer-Immunserum wird das beschriebene Bakterium bis zu einer Verdünnung von 1:100 deutlich agglutiniert. —

Toxinbildung.

Eine 42stünd. Bouillonkultur des normalen Typus wird zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, durch eine Tonkerze filtriert und das keimfreie Filtrat in einer Menge von $^3/_4$ ccm einer Maus unter die Bauchhaut gespritzt, wonach das Tier am Leben bleibt.

Von einer $2^1/_2$ Monate alten Bouillonkultur, die analog behandelt war wie oben, wird 1 ccm Filtrat einer Maus subkutan, einer zweiten Maus 0,5 ccm intraperitoneal injiziert. Nach 24 Stunden sind beide Tiere tot und zeigen bei der Sektion ein leichtes Oedem der Bauchhaut.

1 Meerschweinchen erhält 1 ccm eines aus einer 24stünd. Bouillonkultur gewonnenen Filtrates intraperitoneal, ohne erkennbar zu erkranken. Ein zweites Meerschweinchen erhält 2 ccm Filtrat einer $2^1/_2$ Monate alten Bouillonkultur intraperitoneal und 1 ccm subkutan und bleibt gleichfalls ohne Krankheitserscheinungen.

Ein kleines Kaninchen (840 g) erhält 4 ccm Filtrat einer $2^1/_2$ Monate alten Bouillonkultur intravenös und bleibt normal, wird jedoch von 1 ccm virulenter Aufschwemmung des homologen Stammes, die intravenös injiziert wird, nach 48 Std. getötet.

Somit scheint der beschriebene Stamm lediglich für Mäuse giftig zu sein, während sich die größeren Laboratoriumstiere refraktär verhalten.

Kurz zusammengefaßt handelt es sich um einen Fall, bei dem ein anscheinend bisher nicht beschriebenes Stäbchen aus der Gruppe der Kapselbakterien als Erreger eines chronischen Hirnabszesses und einer chronischen Meningitis mit chronischem Pyocephalus ermittelt werden konnte. Für den chronischen Charakter des Prozesses sprach beim Hirnabszeß und dem Pyocephalus die typische pyogene Membran, bei der Meningitis, die infolge Durchbruchs des Hirnabszesses in den Seitenventrikel entstanden war, die teilweise erfolgte Organisation der vielfach eingedickten Exsudatmassen im Subarachnoidealraum. Den Ausgangspunkt für den Hirnabszeß bildet unzweifelhaft der eitrige Prozeß im unteren Respirationstrakt, in dem sich die genannten Erreger in reichlicher Menge fanden. —

Kapselbakterien als Erreger entzündlicher Prozesse in den verschiedensten Organen sind in der menschlichen Pathologie hinlänglich bekannt. Besonders die Atmungsorgane (Nase mit ihren Nebenhöhlen, Trachea, Bronchien, Lungen inklusive Pleura) und der Harnapparat (Blase, Ureteren und Nieren) sind nicht selten Sitz entzündlicher durch Kapselbakterien hervorgerufener Erkrankungen. Ferner finden sich Kapselbakterien als Erreger von Otitis media, Meningitis, Endocarditis, Leberabszeß, Cholecystitis, Peritonitis, hämorrhagischer Septikämie und von Pyämie, sowie gelegentlich im Darm bei Katarrhen der Säuglinge, bei Ruhr, bei Brechdurchfällen, bei Duodenalphlegmone, endlich nach Genuß verdorbener Nahrungsmittel in den inneren Organen, im Harn und Stuhl, selten bei Keratomalacie, Angina und Stomatitis ulcerosa.

Die Erreger dieser Prozesse sind teils als selbständige Arten anerkannte Stämme wie das Bakterium Friedländer, Bacterium lactis aerogenes, Bacterium scleromatis etc., teils Stämme, die von den genannten Typen in diesem oder jenem abweichen, sich zwanglos in kein Schema einteilen lassen und in der Pathologie des Menschen oft ganz vereinzelt dastehende Befunde bilden. —

Die große Schwierigkeit, die pathogenen Kapselbakterien entweder bakteriologisch oder serologisch oder auf Grund der Pathogenität für Tiere zu differenzieren und in selbständige Arten und Unterarten einzuteilen, erscheint genügend bekannt, so daß hier auf diesen Punkt nicht eingegangen werden soll. Das wenig konstante biologische Verhalten der aus den verschiedenen Organen und Krankheitsprodukten isolierten Stämme ist die wesentlichste Ursache, warum es nicht gelingt, ja geradezu unmöglich ist, eine genaue Einteilung sämtlicher Kapselbakterien zu geben.

Wenngleich zugegeben werden muß, daß die allermeisten pathogenen Kapselbakterien als Angehörige einer wohl charakterisierten Gruppe mit einander sehr nahe verwandt sind, so muß doch der Anschauung entgegengetreten werden, daß die Kapselbakterien gar nicht verschiedenen Arten angehören, sondern sämtliche Differenzen zwischen den einzelnen Stämmen nur durch die Anpassung der Keime an das Milieu, in dem dieselben ihre Wirkung entfalten, bedingt sein sollen. Daß diese Vorstellung nicht für alle Stämme Geltung haben kann und daß es unter den Kapselbakterien doch gut charakterisierte und biologisch offenbar selbständige Arten gibt, Arten, die sich von den übrigen Verwandten sogar leicht und mit Sicherheit unterscheiden lassen, hierfür liefert der hier beschriebene Stamm ein gutes Beispiel.

Gemeinsam mit allen übrigen Stämmen der Gruppe der Kapselbakterien hat unser Stamm das negative Verhalten gegen die Färbung

nach Gram, die Unbeweglichkeit, die Schleimkapsel, das überaus üppige, exquisit schleimige Wachstum, das keine besonderen Ansprüche auf die Güte des Nährbodens stellt, und die Neigung zum Fließen und Abtropfen der namentlich in den ersten Generationen sehr groß werdenden Kolonien.

Zum Unterschied von allen uns bekannt gewordenen Stämmen der Gruppe der Kapselbakterien besitzt unser Stamm die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen und besonders bei Zimmertemperatur einen intensiv dottergelben Farbstoff zu produzieren, wenngleich geringe Gelbfärbung öfters bei Kapselbakterien beschrieben worden ist.

Auffallend ist die starke Veränderlichkeit der Kolonien, die große Neigung zur Mutation, bemerkenswert die Ausbildung einer völligen Immunität beim Kaninchen gegen die sonst tödliche intravenöse Einverleibung virulenter Kulturen nach Vorbehandlung des Tieres mit abgetöteten Kulturen. Während das Serum des immunisierten Kaninchens den homologen Stamm bis zur Verdünnung 1:6000 agglutiniert, erscheint es bei einer Verdünnung von 1:50 wirkungslos gegen einen Stamm des Bacterium Friedländer und einen Stamm von Bacterium lactis aerogenes. Aehnlich vermag ein Friedländer-Immunserum unseren Stamm auch nur bei geringer Verdünnung (und zwar 1:100) zu agglutinieren. —

Auf die Toxizität des Stammes für Mäuse sei hier nochmals hingewiesen. —

Was die Veränderlichkeit der Kolonien auf den einzelnen Nährböden, die namentlich auf Drigalski-Platten stark zum Vorschein kommt, anbelangt, so dürfte dieselbe mit der Kapsel- und Farbstoffbildung der Erreger zusammenhängen. Entsprechend der Temperatur, dem Wassergehalt und der sonstigen Beschaffenheit der Nährböden, vor allem dem Zuckergehalt, entsprechend dem Alter der Kolonien und der Dauer der künstlichen Züchtung ergeben sich zahlreiche Differenzen in den zwei genannten Eigenschaften des Stammes und damit im Aussehen der Kolonien.

Durch die oben genannten Merkmale erscheint unser Mikroorganismus, den ich wegen seiner hervorstechendsten Eigenschaft, der großen Veränderlichkeit in der Kultur, Bacterium mucosum mutabile benennen möchte, hinlänglich charakterisiert, um als solcher erkannt und leicht von der großen Zahl seiner Verwandten, deren Differenzierung oft sehr schwierig, ja in manchen Fällen kaum möglich ist, unterschieden werden zu können. — Insbesondere sein Verhalten in Gelatine berechtigt uns, ihn als pathogenen Vertreter einer eigenen Untergruppe der großen Gruppe der Kapselbazillen anzusehen. Sowohl sein morphologisches und färberisches Verhalten in den Ausstrichpräparaten der Meningitis als auch das Aussehen der Kolonien auf Drigalski- und Agarplatten rechtfertigte von Anfang an die Zuteilung unseres Bakteriums zu derselben Gruppe, der das Bact. pneumoniae Friedländer, das Bact. rhinoscleromatis etc. angehören, wobei erst die eingehende Untersuchung die biologischen Unterschiede aufgedeckt hat.

Pathogenetisch erscheint das Bakterium, wie schon vorhin erwähnt, bemerkenswert als Erreger einer chronischen Meningitis, die infolge Durchbruchs eines offenkundig von den Lungen hämatogen entstandenen Hirnabszesses entstanden war.

Paratyphusepizootien als Ursprungsquellen von Paratyphusepidemien.

[Aus der Sanitätsanstalt des Schlachthofes in München.]

Von Prof. Dr. **Max Müller**, München.

Die durch das Paratyphusbakterium bedingten Infektionen der Schlachttiere sollen sich nach Uhlenhuth auf der Grundlage der epidemiologischen Erfahrung hinsichtlich ihrer Pathogenität und Apathogenität für den Menschen in zwei Gruppen teilen lassen: 1) in Einzelerkrankungen der Schlachttiere, die pathogen für den Menschen werden können, und daher fürs erste stets als pathogen anzusehen seien, und 2) in die Seuchenerreger der Schlachttiere, die für den Menschen in praxi als apathogen anzusprechen seien. In der gesamten Literatur sei nur eine einzige schwer seuchenhaft aufgetretene Tierkrankheit beschrieben, die durch menschenpathogene Paratyphusbakterien hervorgerufen worden ist, die Schafseuche in Ueberruhr. Der Stutenabort, der Kälberparatyphus und die tausende und abertausende schweinepestkranker Schweine, die zur Schlachtung kämen, hätten zu keiner Infektion des Menschen durch das Fleisch dieser Tiere geführt. Dem von M. Müller mitgeteilten Oberurseler Fall sei für die Praxis keine ausschlaggebende Bedeutung beizumessen.

Den gleichen Standpunkt hat zuvor schon v. Ostertag vertreten, wenn dieser betonte, daß nur Einzelinfektionen der Schlachttiere mit Paratyphusbakterien, die der Wundinfektion gleichzusetzen seien, sich als auf den Menschen übertragbar erwiesen hätten. Die Paratyphusseuchen der Schlachttiere, insbesondere die bazilläre Schweinepest einschließlich des Pfeilerschen Ferkeltyphus (Voldagsentyp), seien dagegen nach allen unseren Erfahrungen unschädlich für den Menschen beim Genuß des Fleisches dieser Tiere. — Beide Anschauungen stimmen also darin überein, daß die Paratyphusseuchen der Schlachttiere nicht auf den Menschen übertragbar seien, vielmehr nur gewisse durch Paratyphusbakterien bedingte Einzelerkrankungen der Schlachttiere als gefährlich für den Menschen erachtet werden sollen.

Wenn auch meist der Genuß des Fleisches nur eines Schlachttieres die Veranlassung zu einer Paratyphusepidemie tierischer Herkunft abgibt, so läßt sich aber doch ganz zweifelsohne auf der anderen Seite der Satz, daß die Paratyphusbakterien als Seuchenerreger unserer Schlachttiere keine Pathogenität für den Menschen besäßen, nicht als zutreffend erachten. Nicht nur bei der Ueberruhrer und Oberurseler Paratyphusepidemie entsprangen diese Erkrankungen des Menschen Paratyphusepizootien, sondern in einer Reihe weiterer Fälle läßt sich nachweisen, daß die Epidemie aus einer Epizootie durch Uebertragung des tierischen Infektionserregers auf den Menschen erwachsen ist. Ich habe dies abgesehen von Oberursel auf Grund eigener Erfahrung auch für die Epidemien von St. Johann, Kochel und München bestätigt gefunden.

In der Natur gibt es keine Ausnahmen, sondern nur Gesetz. Die Behauptung, daß die Paratyphusepidemien tierischen Ursprungs in keinem Zusammenhange mit Paratyphusseuchen der Schlachttiere stünden, läßt sich weder epidemiologisch, noch epizootologisch stützen. Man muß diesen Fällen, wie ich dies in St. Johann und Kochel getan habe, nur epizootologisch nachgehen, um zu erkennen, daß lediglich eine einzelne Notschlachtung zum Ausgangspunkt der Epidemie wird, daß aber andererseits die Einzelnotschlachtung doch im Zusammenhang mit einer Stall- oder Ortsseuche der Tiere steht.

Die Schädlichkeit des Fleisches eines Einzeltieres läßt nicht den Schluß zu, daß hier nur ein Einzelfall einer Infektion und keine Seuche vorliegt. Bei Rindern und Pferden werden keine Massenschlachtungen in den Beständen der Landwirte vorgenommen, zumal die Paratyphusinfektionen hier entweder latent zu verlaufen pflegen oder als Seuchen nicht erkannt werden. Günstiger liegt die Sachlage für die Beurteilung des Zusammenhanges der Tierseuche mit der Menschenseuche bei Schweinen und Schafen. Hier wird ja auch die Schlachtung mehrerer Tiere eines Bestandes häufiger vorgenommen, so daß auch mehrere Tiere eines verseuchten Bestandes zum Ausgangspunkt für Paratyphusepidemien werden können.

Erkrankt ein Tier bei den meist latent verlaufenden Paratyphusinfektionen der Schlachttiere in schwerer Form, so wird es notgeschlachtet und wenn die Beschau keinen Grund zu einer Beanstandung ergibt, zum Genuß für den Menschen als geeignet erklärt. Aus dem Genuß des Fleisches und der Organe dieses notgeschlachteten Einzeltieres entsteht dann die Paratyphusepidemie beim Menschen. Die gleichzeitig gegeben gewesene Infektion weiterer Tiere aber bleibt verborgen.

So ließ sich die St. Johanner Epidemie auf den Genuß des Fleisches eines notgeschlachteten Ochsen zurückführen. Als ich hier Untersuchungen anstellte, ob weitere Tiere des Ortes als infiziert zu erachten sind, zeigte sich, daß 3 von 7 Rindern aus weiteren Ställen, einen über das 10fache erhöhten Agglutiningehalt des Blutserums besaßen. Die Untersuchungen weiterer Tiere war leider nicht möglich, da die Tierbesitzer wegen getroffener polizeilicher Maßnahmen die Entnahme von Blutproben bei den Tieren versagten. Während der normale Agglutinationstiter des Kuhserums 1:100—1:200 beträgt, zeigten 2 Kühe Titer von 1:2000 und 1:4000 und während der Titer des normalen Kälberserums 1:30 bis 1:60 zu sein pflegt, betrug der Bluttiter eines Kalbes auf den Gärtner-Stamm, der die Epidemie erzeugt hatte, 1:400. Während des Ablaufes eines Jahres konnte ich das Abklingen der Bluttiter dieser Tiere auf die Norm beobachten. Es hatte also hier keine Einzelinfektion, sondern zweifelsohne eine Ortsseuche vorgelegen, dagegen wurde nur ein Tier notgeschlachtet. In den Aufzählungen der Fleischvergiftungen erscheint die St. Johanner Epidemie aber als durch einen Einzelfall bedingt.

Bei der Kocheler Fleischvergiftung 1914 konnte ich nachweisen, daß nicht nur die notgeschlachtete Kuh an einer Paratyphusinfektion erkrankt, sondern auch das von dieser Kuh stammende Kalb. Von den übrigen Stalltieren zeigten 3 Tiere einen über die Norm erhöhten Gehalt des Blutserums an Agglutininen: Auch hier lag also kein Einzelfall von Infektionen mit Paratyphusbakterien sondern eine Stallseuche vor.

Das Vorliegen einer Gehöftsseuche für verschiedene Tiergattungen und Menschen hat Pfeiler bei der Bobrauer

Fleischvergiftung nachgewiesen. Hier erkrankten Menschen, Rinder, Schweine und Hunde zugleich an Paratyphus-B-Infektionen. — Der Genuß des Fleisches eines paratyphusinfizierten Rindes führte zur Erkrankung der Mitglieder von 3 Familien. Der das Fleisch mitverzehrende Hund ging ein. 9 Schweine und 1 Rind, die das Blutwasser des notgeschlachteten Rindes aufgenommen hatten, erkrankten an hohem Fieber, Appetitmangel und unstillbarem Durchfall. Nach 3 Tagen erlagen das Rind und 2 Schweine der Paratyphusinfektion, die sie sich durch das Trinken des Blutwassers zugezogen hatten. Im notgeschlachteten Rind, im verendeten Rind und Hund und in den verendeten Schweinen wurden nach Pfeiler echte Paratyphusbazillen nachgewiesen, die von dem Blutserum erkrankt gewesener Personen in hohen Verdünnungsgraden agglutiniert wurden. Daß die Erkrankungen der Menschen lediglich auf das genossene Fleisch eines Rindes zurückging, ist also lediglich dem Umstande zuzuschreiben, daß die weiteren infiziert gewesenen Schlachttiere (1 Rind und 2 Schweine) und der Hund eingingen und das Fleisch dieser Tiere nicht konsumiert wurde. Ich halte diesen Fall für außerordentlich lehrreich dafür, daß die gleiche Paratyphusseuche Mensch und Tiere ergreifen kann.

Daß auch bei Pferden Paratyphusseuchen vorkommen, die sich durch Fleischgenuß eines notgeschlachteten Tieres als auf den Menschen übertragbar erweisen, läßt eine Beobachtung erkennen, über die Glage berichtet hat.

Bei einer Paratyphusepidemie erkrankten 392 Personen, von denen 2 starben. Die Herkunft ließ sich aus dem Genuß des Fleisches eines notgeschlachteten Pferdes erweisen. Dieses Pferd hatte ein Landwirt von einem Händler gekauft. Nach einiger Zeit bekundete es eine fieberhafte Krankheit des Darmes und der Atemwege. Der Besitzer ließ sich auf eine Behandlung nicht ein, sondern übergab das Pferd dem Pferdeschlächter. Das Fleisch des Pferdes wurde vom zuständigen Tierarzt als tauglich freigegeben und bedingte eine ausgebreitete Paratyphusepidemie. — Die übrigen Pferde des Landwirts erkrankten bald nachher unter ähnlichen Erscheinungen wie das notgeschlachtete Pferd. Also auch hier lag eine seuchenhafte, ansteckende Erkrankung bei Pferden vor, von denen aber nur ein darmkrankes Tier von geringem Werte abgeschlachtet wird, während die anderen darmkranken Pferde selbstverständlich nicht geschlachtet, sondern behandelt wurden. Im Pferdefleisch und den Organen der beiden gestorbenen Menschen wurden Paratyphus B-Bazillen nachgewiesen.

Ergibt sich somit aus diesen Beobachtungen ein Vorkommen seuchenhafter Paratyphusinfektionen bei Rindern und Pferden die auf den Menschen durch Fleischgenuß übertragbar sind, so erklärt sich auch der Paratyphusseuchenfall bei Schafen, den Bruns, Gasters und Frickinger beschrieben haben, in durchaus natürlicher Weise, ohne in dieser Epizootie einen Ausnahmefall erblicken zu müssen, wie dies v. Ostertag und Uhlenhuth immer betonen.

Bei der Ueberruhrer Paratyphusepidemie mit mehr als 2000 Erkrankungen beim Menschen und 4 Todesfällen geht die Infektion mit Paratyphus B-Bazillen auf eine Paratyphusseuche der Schafe zurück. Hier erliegen von einer 300 Kopf starken Herde etwa 100 Tiere der fieberhaften ansteckenden Gastroenteritis, während 40 Tiere notge-

schlachtet werden. Die Pathogenität des Fleisches dieser Tiere tritt insbesondere dadurch zutage, daß roh gehackte Lebern mit gekochten Eingeweiden zu Brühwürsten verarbeitet werden, in denen die Infektionserreger nicht abgetötet wurden.

Eine ähnliche Paratyphusseuche bei Schafen hat unlängst auch Meyer-Bayreuth· gelegentlich der Fleischbeschau notgeschlachteter Schafe festgestellt. In einer Herde von 60 Schafen erkrankten nach dem Weiden auf einem Roggenfelde zahlreiche Schafe unter den Erscheinungen von Durchfall, Tympanitis, Taumeln und Atemnot. 9 Tiere verendeten, 15 Schafe wurden notgeschlachtet, die übrigen Tiere gesundeten. Der 1. Beschautierarzt hatte die notgeschlachteten Schafe als minderwertig begutachtet, doch ergab die bakteriologische Untersuchung der notgeschlachteten und verendeten Schafe das Vorliegen einer „Paratyphusseptikämie“. Das Fleisch der Tiere wurde demzufolge als untauglich zum Genuß für den Menschen erklärt. Auch hier hätte eine Paratyphusepidemie entstehen können, wenn das Fleisch und die Organe der infizierten Schafe, wie in Ueberruhr ungenügend sterilisiert genossen worden wäre. — Bei der Fleischbeurteilung ist der Tierarzt somit gar nicht in der Lage, sich den Inhalt der Ostertag-Uhlenhuthschen Lehre zu eigen zu machen, da hierdurch die Fleischbeschau ja gerade das zeitigen würde, was sie verhüten soll[1]).

Sind nach den vorstehenden Ausführungen Paratyphusepizootien bei Rindern, Pferden und Schafen nachgewiesenermaßen die Ursprungsquelle für Paratyphusepidemien schon gewesen, so läßt sich das Entstehen von Paratyphusepidemien aus Epizootien der Schweine in einer Reihe von Fällen erkennen. Diese Tatsache muß in ihrer Tragweite umso mehr beachtet werden, als die Paratyphusseuchen der Schweine immer wieder als belanglos für den Menschen hingestellt werden, während nach meinen Feststellungen die Paratyphusinfektionen des Schweines für das Entstehen von Paratyphusinfektionen des Menschen stark in Frage kommen.

Der Oberurseler Fall bildet daher ebenfalls keine Ausnahme sondern eine durchaus klare und einwandfreie Beobachtung, die uns ein gegebenes Naturgesetz erkennen lehrt. — Hier erkrankten 7 Schweine, die notgeschlachtet wurden, außerdem verendeten teils vorher teils nachher 11 Schweine, die von Pohle als mit dem Typus Voldagsen (Ferkeltyphus nach Pfeiler) infiziert befunden wurden. Durch den Genuß des rohen Leberwurstbreies erkrankten eine Anzahl Personen, so daß also hiermit die Uebertragbarkeit des Voldagsenparatyphus der Schweine auf den Menschen er-

1) Anm. bei der Korr.: Ueber seuchenhafte Erkrankungen der Rinder durch den Bac. enteritidis Gärtn. hat unlängst Lütje berichtet. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 34. Jahrg. 1926. Nr. 24 u. 25.) Lange u. Poessler stellten bei zwei Fleischvergiftungen in Pommern fest, daß in dem einen Falle außer dem krank gewesenen Rinde nach 14 Tagen im gleichen Stalle eine Kuh an Enteritis-Gärtnerinfektion einging und vordem ein Fohlen und ein Kalb verendet waren. — Im zweiten Falle ergaben die Nachforschungen, daß außer dem Jungbullen, dessen Fleisch die Erkrankungen bei den Menschen verursacht hatte, häufiger Jungtiere erkrankt waren. Bei einem $^1/_2$ Jahr nach der Fleischvergiftung geschlachteten Kalbe wurde wie im Jungbullenfleisch eine Infektion durch Gärtnerbakterien festgestellt. — In beiden Fällen lagen also Gehöftseuchen mit Gärtnerbakterien vor, die durch die Freigabe des Fleisches infizierter Tiere auf den Menschen übertragen wurden (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene 36. Jahrg. 1926. S. 177).

wiesen ist. Auf jeden Fall aber lag hier eine Paratyphusseuche der Schweine und zwar eine Voldagsenepizootie vor, der eine Voldagsenepidemie durch den Genuß rohen Fleisches folgte.

Einen ähnlichen Fall stellt die Hildesheimer Fleischvergiftung 1911 vor. Hier wurde ein verseuchter Bestand von 303 Schweinen abgeschlachtet. Die anatomische Diagnose wurde auf „Schweineseuche“ gestellt, da vielfach die Lungen erkrankt waren. 5 Schweine wurden wegen Gelbsucht und eitriger Rippenfellentzündung als untauglich erklärt. Die Eingeweide der geschlachteten Tiere wurden vernichtet; die Tierkörper freigegeben. Von den 303 Schweinen waren 5 Schweine wegen mangelnder Freßlust am 13. u. 14. 4. notgeschlachtet worden, der Rest am 18. 4. Das Fleisch der zuerst geschlachteten Schweine, die einen besonders schwer kranken Eindruck gemacht hatten, wurde in Hildesheim verkauft. Durch den Genuß des Fleisches erkrankten 91 Personen. Wegen des abweichenden agglutinatorischen Verhaltens gegenüber Para B. u. Gärtner-Serum wurde der Infektionserreger als Paratyphus C-Bazillus angesprochen. Es dürfte aber wohl auch hier ein Voldagsenparatyphus vorgelegen haben, der von einem paratyphusverseuchten Schweinebestande auf den Menschen übertragen wurde. Daß sich die Virusseuche der Schweine zuweilen mit Paratyphusseuchen vergesellschaftet, ist ja nach den ersten diesbezüglichen Feststellungen Uhlenhuths und seiner Mitarbeiter bekannt. Von weiteren Beobachtungen der Uebertragbarkeit von Paratyphusseuchen der Schweine auf den Menschen seien folgende erwähnt.

Im Kreise Stuhm wurde der Schweinebestand einer Molkerei wegen Virusseuche abgeschlachtet. Das Fleisch zweier Schweine wurde wegen akuter Seuche als bedingt tauglich erklärt und gepöckelt. Der Genuß des Fleisches beider Schweine erzeugte Paratyphus bei einer Reihe von Menschen. In den Schinken wurden Paratyphus C-Bazillen in Reinkultur gefunden, weil sie sich serologisch mit dem Bacillus suipestifer bzw. Paratyphus B nicht als identisch erwiesen (s. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 3479. S. 246 u. 299. 1924). Auch hier lag also kein Einzelfall, sondern eine auf den Menschen übertragbar gewesene Paratyphusseuche der Schweine vor, die ebenfallls durch ein Bakterium vom Voldagsentypus, C-Bazillus genannt, verursacht gewesen sein dürfte.

In Haynrode waren nach einer mir persönlich von Veterinärrat Dr. Hartnack gemachten Mitteilung zwei Schweine eines Landwirtes an Durchfall erkrankt. Das eine Schwein wurde notgeschlachtet, während das andere Schwein wieder gesundete. Durch den Genuß des Schweinefleisches erkrankten die Mitglieder von etwa 12 Familien an Paratyphus. Also: Stallseuche mit Notschlachtung eines Tieres.

In Thurgau erkrankten nach Silberschmidt 1896 7 Personen an Fleischvergiftung nach dem Genuß des Fleisches mehrerer Ferkel, die an einer mit Hautrötung und Magendarmkatarrh einhergehenden infektiösen Krankheit — also an einer Paratyphusseuche — gelitten hatten.

Riemer berichtet, daß 1907 63 Personen in Rostock an Paratyphus durch den Genuß von Leberwurst erkrankten. Die Wurst enthielt den Bacillus enteritidis Gärtner und war aus den Lebern von Schweinen hergestellt, die als seuchenverdächtig abgeschlachtet, vom Beschauer aber bis auf ein Schwein als scheinbar gesund befunden

wurden. Bei diesem einen Schweine war die Lunge erkrankt. Es dürfte also auch in diesem Falle, der ein Analogon zu Oberursel bildet, ebenfalls eine Komplikation von Virusseuche mit einer Paratyphusseuche der Schweine vorgelegen haben.

Auf den Zusammenhang von Paratyphusepidemien mit seuchenhaften Infektionen der Schweine haben abgesehen von mir auch Pottevin, Tiberti und Lentz schon hingewiesen. Im Hinblick auf die proklamierte Unschädlichkeit der Paratyphusbakterien des Schweines für den Menschen wurde aber diesen Hinweisen keine Beweiskraft zugesprochen.

Unlängst berichtete fernerhin Demnitz über Beobachtungen, die gleichfalls die Uebertragbarkeit suiler Paratyphusbakterien (Bac. suipestifer) auf den Menschen. Nach dem Genuß von Rollschinken, erkrankten 25 Personen in Form von Paratyphus. Die Schinken stammten von Schweinen, die wegen Virusseuche notgeschlachtet waren und die mit Suipestiferbakterien seuchenhaft infiziert waren. Durch den Pökelprozeß erfolgte postmortal die excessive Vermehrung der intravital eingewanderten Paratyphusbakterien, wodurch die stark infizierten Schinken nunmehr Krankheitserscheinungen bei einer Reihe von Menschen auslösten.

Das gleiche Vorkommnis ist mir 1914 in München unterlaufen. Nach dem Genuß von gepökeltem und geräuchertem Schweinefleisch, das von Schweinen stammte, die an akuter Virusseuche gelitten hatten, erkrankten eine Anzahl von Personen an Paratyphus. Welche Type von Paratyphusbakterien vorlag, wurde damals nicht näher bestimmt und ist meiner Annahme nach auch von untergeordneter Bedeutung. Der Allgemeinheit ist es ganz gleichgültig, ob die Bakteriologen die eine Type für nur tierpathogen, die andere für nur menschenpathogen halten. Die Allgemeinheit will auf jeden Fall nicht durch tierische Paratyphusbakterien in lebensgefährdender Weise erkranken. Die möglichst weitgehende Ausschaltung von mit Paratyphusbakterien infiziertem Fleische ist eben Aufgabe der Fleischbeschau. Im Typusstreit aber verliert sich das durch die Fleischbeschau zu erstrebende Ziel.

Im Gegensatz zu Uhlenhuth, Ostertag, Pfeiler, Bitter u. a. möchte ich besonders darauf hinweisen, daß die Voldagsenepidemien des Menschen zum Teil zweifelsohne ihren Ursprung in Voldagsenepizootien der Schweine haben. Bei der Oberurseler Epidemie handelte es sich auf jeden Fall um eine Voldagsenseuche der Schweine, die eine Voldagsenepidemie bei einer Reihe von Menschen zur Folge hatte. Auch die von Bernhardt beschriebene Paratyphusepidemie im Kreise Elbing mit 35 Erkrankungen und 1 Todesfall ist nach den Mitteilungen Ilgners auf den Genuß von Schweinefleisch zurückzuführen. Wie Ilgner festgestellt hat, befand sich nämlich in dem genossenen Hackfleisch Schweinefleisch. Dieses Schweinefleisch stammte aus einer Käserei, deren Schweinebestand wegen „Schweinepest“ abgeschlachtet werden mußte. Es wurde also Schweinefleisch aus einem verseuchten Schweinebestande genossen. Da hier die Erkrankung der Menschen durch Voldagsen-Bakterien verursacht waren, so läßt sich mithin auch hier die Ursprungsquelle auf den Genuß von Schweinefleisch aus einem verseuchten Bestande zurückverfolgen. — Daß in den anderen Epidemien, die ihren Ursprung in Schweineepizootien hatten,

die als C-Typen angesprochenen Bakterien Voldagsen-Bakterien gewesen sein dürften, habe ich schon oben betont. Auch die epidemiologischen Feststellungen Geißlers lassen vermuten, daß die Paratyphusepidemien des Menschen, bei denen er in den Stühlen Voldagsen- bzw. Suipestiferbakterien und im Blut positiven Widal fand, mit den in Pommern stationären Paratyphusseuchen der Schweine zusammenhängen. Bei Einzel- und Massenerkrankungen des Menschen an Paratyphus, sagt Geißler, habe man es in Pommern zweifelsohne häufiger mit Voldagsen- bzw. Suipestiferinfektionen zu tun, ohne es zu wissen.

Schließlich sind die Namen, mit denen die Infektionserreger belegt werden, ja Schall und Rauch gegenüber der sicheren Tatsache, daß Paratyphusepidemien zum Teil ihren Ursprung in Paratyphusepizootien finden. — Bestimmte Paratyphusinfektionen der Schlachttiere, die diese einzeln oder in Form der Seuche befallen, sind durch Fleischgenuß auf den Menschen übertragbar und erzeugen hier Paratyphusepidemien tierischen Ursprunges. Das ist das Ergebnis der epidemiologischen und epizootologischen Erfahrung.

Die Erreger der Paratyphusseuchen der Schlachttiere können daher nicht als apathogen für den Menschen erachtet werden. Nach den bisherigen Beobachtungen über Paratyphusepidemien die auf Paratyphusepizootien zurückzuführen waren, haben sich Gärtner-Bakterien, Paratyphus B-Bakterien, (B-Typus, Breslautypus und Suipestiferbakterien) und Voldagsen-Bakterien (einschließlich der als C-Typen bezeichneten Bakterien) als vom Tier auf den Menschen übertragbare Seuchenerreger erwiesen. Hiermit ist das bestätigt worden, was ich bereits früher eingehend dargelegt habe, daß es einen vom Tier auf den Menschen übertragbaren Paratyphus gibt, der durch bestimmte für Tier und Mensch pathogene Typen verursacht wird, durch Typen, die also bipathogen sind und die sich daher auch für Tier und Mensch als identisch, als gleichartig in jedem Uebertragungsfall vom Tier zum Menschen, erweisen. Daß es daneben vielleicht Typen gibt, die nur menschenpathogen zu sein scheinen, und Typen, die nur tierpathogen zu sein scheinen, ändert an den vorstehenden tatsächlichen Feststellungen nichts. Wenn es rein humane Typen gibt, kommen diese bei Paratyphusepizootien ja nicht in Frage und wenn es rein tierpathogene Typen gibt, können diese ja keine Paratyphusepidemien erzeugen.

Nun sind zweifelsohne gewisse Besonderheiten bei den Para B-Bakterien im Kolonienwachstum und auch in der Pathogenität für Mäuse feststellbar, die zwei Typen nach Bitter unterscheiden lassen. Diese Wachstumseigenschaften und die variable Pathogenität vieler Stämme dieser beiden Typen für weiße Mäuse sind aber nicht geeignet, die Paratyphus B-Bakterien in nur menschenpathogene und nur tierpathogene Typen zu trennen. Bei den Epidemien tierischen Ursprungs, wie auch bei der Ueberprüfung von Tieren stammender Paratyphusbakterien, sind jedenfalls beide Typen nachweisbar gewesen, womit sich die Bitterschen Kriterien der B-Typen ungeeignet für eine Scheidung nur menschenpathogener Typen von tierpathogenen aber auch menschenpathogenen Typen erweisen, ungeachtet des Umstandes, daß zweifelsohne das Vorkommen des wallbildenden B-Typus vorzugsweise beim Menschen

das Vorkommen des Aertryk-Breslau-Typus mehr bei Tieren zu beachten ist. Beide Typen aber insbesondere die von Tieren bekunden eine bipathogene Veranlagung.

Auch der klinische Verlauf der Paratyphusinfektionen des Menschen erweist sich ungeeignet, um aus dem gastroenteritischen Ablauf auf die tierische und aus dem typhösen Verlauf auf die nichttierische Herkunft der Infektion mit Sicherheit schließen zu können. Wer die Mitteilungen über den klinischen Ablauf der Paratyphuserkrankungen beim Menschen, die auf Paratyphusinfektionen der Schlachttiere zurückgehen, näher studiert, wird finden, daß die vom Tiere stammenden Paratyphusbakterien beim Menschen zwar meist einen gastroenteritischen Ablauf des Krankheitsbildes erzeugen, daneben aber auch typhöse Krankheitsbilder bedingen können. Hierauf hat ja schon Bollinger und neuerdings auch Schottmüller wieder hingewiesen. Das Krankheitsbild beim Menschen läßt also keinen sicheren Rückschluß auf die tierische oder menschliche Herkunft der Infektion zu, unbeschadet der Richtigkeit der Beobachtung, daß das Vorkommen des gastroenteritischen Krankheitsverlaufes die Vermutung der tierischen Herkunft der Paratyphusinfektion nahe legt. Bitter geht lediglich in seinen Schlüssen zu weit und will ein Schema aufstellen, das die Natur als Regel nicht kennt. Die Verschiedenheit des Ablaufes des klinischen Krankheitsbildes wird einerseits durch die Menge und die Virulenz der aufgenommenen Bakterien, andererseits durch die Verschiedenartigkeit der individuellen Reaktionsfähigkeit des menschlichen Körpers auf gleich starke oder verschieden starke Infektionen bedingt.

Welche Typen als pathogen für Tier und Mensch als bipathogen zu erachten sind, lehren somit letzten Endes immer wieder einzig und allein die Epidemien, die nachweisbar oder sachlagegemäß aus Epizootien erwachsen sind. Die Erfahrung des täglichen Lebens gibt also den Ausschlag in dieser Frage. Als Bakteriologen können wir nur feststellen, welche Typen von Paratyphusbakterien sich vom Tier als auf den Menschen übertragbar erweisen, wenn Epidemien aus Epizootien entstehen. Und hierbei zeigt es sich daß es in diesen Fällen, soweit unsere bisherige Erfahrung reicht, Gärtner-Bakterien, Paratyphus B-Bakterien im Sinne der beiden Typen Bitters und Voldagsen-Bakterien immer wieder sind die bei den Schlachttieren Einzelinfektionen oder Seuchen erzeugen, und dann unter geeigneten Umständen vom Tier auf den Menschen durch Fleischgenuß übertragen werden können. Die feststellbar gewesenen Tatsachen zwingen uns also die Erkenntnis auf, daß aus Paratyphusepizootien Paratyphusepidemien entstehen können. Hiermit wird der Lehrsatz, daß die seuchenerregenden Paratyphusbakterien der Schlachttiere und insbesondere der Bacillus suipestifer und der Voldagsen-Bazillus (Ferkeltyphusbazillus) ungefährlich und unschädlich für den Menschen seien, unhaltbar.

Die Fleischbeschau als Maßnahme der öffentlichen Gesundheitspflege würde schwere Fehler begehen, wenn sie der Uhlenhuth-Ostertagschen Lehre entsprechend paratyphusinfizierte Schlachttiere nicht beanstanden sondern zum Genusse für den Menschen freigeben würde, sofern sich der Zusammenhang mit einer Tierseuche, die auch in Einzelfällen von Notschlachtungen vorliegen kann, ergibt.

Die Beanstandung der Schlachttiere, in deren Fleisch und Organen

Paratyphusbakterien nachweisbar sind, bedingt auch keinen allgemeinwirtschaftlich in Frage kommenden Schaden. Die Befunde von Paratyphusbakterien in Fleisch und Organen von Schlachttieren sind viel seltener, als man dies nach den Angaben über die angebliche und vermeintlich große Häufigkeit von Paratyphusinfektionen und Seuchen der Tiere anzunehmen geneigt ist.

Nicht von der Typendifferenzierung oder der Möglichkeit hierzu ist die Fleischbeschau in ihrem Streben, die vom Tier auf den Menschen übertragbaren Tierkrankheiten zu ermitteln und auszuschalten, abhängig — sondern in der Schwererfaßbarkeit der tierischen Paratyphusinfektionen liegt das Moment, das die restlose Verhütung des Entstehens von Paratyphusepidemien aus Paratyphusinfektionen der Schlachttiere vorerst nicht ermöglicht.

Die tierischen Paratyphusinfektionen sind vielfach anatomisch nicht erkennbar und eine allgemeine Untersuchung aller Schlachttiere auf das Freisein von Paratyphusbakterien im Fleisch und allen Organen, die genossen zu werden pflegen, ist nicht durchführbar.

Soweit bei den Schlachttieren aber Paratyphusinfektionen durch die bakteriologische Untersuchung ermittelt werden, ist die Infektionsgefahr für den Menschen durch diese Schlachttiere nur dadurch zu beseitigen, daß alle Tiere unbeschadet der Tiergattung, die eine Allgemeininfektion mit Paratyphusbakterien aufweisen (Gärtner-, Para A-[1]), Para B- und Voldagsen-Infektionen) als untauglich zum Genuß für den Menschen begutachtet werden, wohingegen das Fleisch von Tieren, die keine Muskelinfektionen sondern nur Infektionsresiduen in einzelnen Organen aufweisen als bedingt tauglich durch Kochen unter Ausschluß der Organe zu erachten wären.

Hiermit ist der leitende Grundsatz gegeben, von dem aus die Fleischbeschau als Maßnahme der öffentlichen Gesundheitspflege, das Entstehen von Paratyphusepidemien aus paratyphusinfizierten Tieren weitmöglichst zu verhüten trachten muß. Schwierigkeiten, wie sie die Typenfrage vom Standpunkt des Einschematisierens der Typen bietet, kommen für die Fleischbeschau mithin, wie ich dies schon früher im Gegensatz zu Bitter betont habe, nicht in Frage.

Wenn die Schwierigkeit, die die Paratyphusfrage bietet, in der Hauptsache darin bestehen soll, die Frage zu entscheiden, ob die tierischen Paratyphusinfektionen auf den Menschen übertragbar sind und welche Paratyphusinfektionen der geschlachteten Tiere hierzu Veranlassung zu geben vermögen, so wird die Beantwortung dieser Frage so einfach oder so schwierig, wie sie sich der Einzelne selbst macht.

Der Erfahrungsstandpunkt in Verbindung mit unserem Wissen über die Natur der Erreger macht die Beantwortung einfach; das Streben, erst die Erreger finden und prüfen zu wollen, ob der Infektionserreger als tierischer oder menschlicher zu erachten ist, macht die Beantwortung dagegen nicht nur schwierig, sondern auch verworren. Durch dieses Vorgehen geht das verloren, was der Zweck naturwissenschaftlicher Untersuchungen und Ueberlegungen sein sollte, das verworren Erscheinende auf die einfachste Weise aus den Erfahrungen des täglichen Lebens bzw. den bei den Paratyphusepidemien gegebenen Tatsachen zu erklären.

---

1) Das Vorkommen echter Paratyphus A-Bakterien haben Uhlenhuth und Hübener dreimal in den Organen von Ferkeln mit Virusseuche festgestellt.

Die falsche Umdeutung von Beobachtungen über Wachstumseigentümlichkeiten in widersprechender Weise zu der diesen Stämmen von Natur aus gegebenen Pathogenität führt notwendigerweise zu einem System, das für die Praxis unbrauchbar wird, wie dies beim Ansprechen des Bac. suipestifer als apathogen für den Menschen oder beim Umdeuten der Paratyphusseuchen der Tiere als ungefährlich für den Menschen zutage tritt.

Das was ohne weiteres erkennbar ist, die Bipathogenität der Paratyphusbakterien bei Epidemien tierischen Ursprunges läßt sich daher auch richtig deuten, bevor die Typenfrage in Angriff genommen wird. Die Frage aber, welche tierischen Paratyphusbakterien auf den Menschen übertragbar sind und welche für den Menschen apathogen sind, läßt sich jedenfalls rein morphologisch und serologisch unter mehr oder minder willkürlicher Beiseiteschiebung unseres Erfahrungswissens für die Zwecke der Fleischygiene nicht entscheiden. Für die Fleischhygiene sind grundsätzliche Schwierigkeiten überhaupt nicht mehr vorhanden, nachdem wir die Paratyphusbakteriengruppen, denen die menschenpathogenen Paratyphusbakterien der Schlachttiere entstammen, kennen. Für die Fleischhygiene kommen lediglich technische Schwierigkeiten in Frage, dergestalt, daß eine allgemeine Untersuchung aller geschlachteten Tiere auf das Freisein von Paratyphusinfektionen, ähnlich wie die Untersuchung der Schweine auf Trichinenfreiheit vorerst nicht durchführbar ist und auch wohl kaum jemals durchführbar werden wird.

Literatur.

Bernhardt, G., Beitrag zur Frage der Fleischvergiftungserreger; Paratyphus B-Bazillen vom Typus Voldagsen als Erreger menschlicher Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73. 1912. S. 65. — Bitter, L., Die Bedeutung der Paratyphuserkrankungen der Schlachttiere für die Fleischbeschau. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1923. S. 257.) — Bitter, L., u. Holtz, H., Die Bedeutung der Typentrennung in der Paratyphus-Enteritisgruppe. (Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 50. 1924. S. 119.) — Bruns, H., u. Gasters, Paratyphusepidemie in einer Hammelherde; dadurch bedingte Massenerkrankung an Fleischvergiftung in Ueberruhr (Landkreis Essen). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 90. 1920. S. 263.) Demnitz, A., Zur Frage der Menschenpathogenität des Bact. suipestifer. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 34. 1926. S. 345.) — Frickinger, H., Fleischvergiftungsepidemie im Anschluß an eine Paratyphuserkrankung der Schafe. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 29. 1918. S. 346.) — Geissler, W., Massenerkrankungen an Brechdurchfall und ihre Beziehung zur Schweinepest. (Zeitschrift f. Medizinalbeamte. Jahrg. 26. 1913. S. 764.) — Glage, Aus der Gerichtspraxis bei Fleischvergiftungen. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 32. 1916. S. 517.) — Heimann, W., Ueber die durch einen sogen. „Paratyphus C"-Bacillus verursachte Fleischvergiftungsepidemie in Hildesheim im Frühjahr 1911. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. S. 211.) — Ilgner, W., Die Fleischvergiftungen im Mai 1912 in den Landkreisen Marienburg und Elbing. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Bd. 23. 1913. S. 361.) — Lentz, O., Ueber Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 103. 1924. S. 321.) — Meißner, Zur Differenzierung der Paratyphus-Enteritisgruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. S. 243.) — Müller, Max, Ueber den Zusammenhang des Paratyphus der Tiere mit dem Paratyphus des Menschen. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 80. S. 433 u. 439; Bd. 81. S. 515 u. 521.) — Ders., Paratyphusseuche bei Schafen nebst Bemerkungen über die Schwererfaßbarkeit tierischer Paratyphusinfektionen, die auf den Menschen übertragbar sind. (Tierärztl. Rundsch. Jahrg. 29. 1926. S. 157.) — v. Ostertag, R., Handb. d. Fleischbeschau. 7. u. 8. Aufl. Bd. 2. 1923. S. 656.) — Pfeiler, W., u. Engelhardt, F., Die Fleischvergiftung in Bobrau im Juli 1913 usw. (Mitteil. d. Kaiser Wilh.-Inst. f. Landwirtsch. Bd. 6. S. 244.) — Pottevin, Contribution à la bactériologie des gastro-entérites infectieuses. (Ann. de l'Inst.

Pasteur. T. 19. 1905. p. 426.) — Riemer, Ueber eine nach Genuß von Leberwurst beobachtete Fleischvergiftung u. deren Erreger. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1908. S. 169.) — Schottmüller, Diskussionsbemerkung zur Paratyphusfrage. (Ibid. Abt. I. Bd. 97. 1926. S. 331.) — Silberschmidt, Ueber eine Fleischvergiftung. (Korrespondenzbl. f. schweiz. Aerzte. Bd. 26. 1896. Nr. 8.) — Tiberti, N., Bakteriologische Untersuchungen über eine Fleischvergiftungsepidemie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908. S. 41.) — Uhlenhuth, P., Paratyphus. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. S. 219.) — Uhlenhuth u. Hübener, Paratyphus A. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 3. S. 1140.) — Uhlenhuth, u. Seiffert, W., Der gegenwärtige Stand des Paratyphusproblems. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 52. 1926. Nr. 16, 17 u. 18.)

Zur Aetiologie der Grippe.

[Aus dem Bakteriologischen Staatsinstitut und Universitätslaboratorium zu Smolensk (Dir.: Prof. Dr. Isabolinsky).]

Von **M. Isabolinsky** und **W. Judenitsch.**

Die Aetiologie der Grippe ist bis heute noch nicht ganz geklärt. Die Bedeutung des Pfeifferschen Bazillus, den der Entdecker selbst und seine Anhänger als die alleinige Ursache der Grippeepidemien ansehen, wird seitens einiger Forscher, die auf Grund experimenteller Untersuchungen auch andere Erreger fanden, bestritten.

Die interessanten Beobachtungen amerikanischer Forscher (Blace, Cecil, Russel und Steffen, Olitsky und Gates), die eine Reinkultur des Pfeifferschen Bazillus Menschen injizierten, sprechen nicht für die ätiologische Rolle dieses Erregers.

Andererseits findet die Hypothese von Kruse über das filtrierbare Virus keine genügende Bestätigung. Das von Olitsky und Gates erhaltene Bact. pneumosintes ruft eine Erkrankung bei Kaninchen, nicht aber bei Menschen hervor.

Die Theorie von Sahli und Bernhardt über die Multiplizität des Grippevirus verdient, wie aus der Literatur dieser Frage ersichtlich ist, die größte Aufmerksamkeit. In der Tat findet man verschiedene Mikroorganismen bei großen Grippeepidemien, hauptsächlich Pneumokokken und Streptokokken, was durch eine große Reihe von Arbeiten, die in der letzten Zeit erschienen sind, bestätigt worden ist.

In vorliegender Arbeit wollen wir kurz über die Resultate unserer Untersuchungen an einer Reihe von Grippekranken berichten, die wir Gelegenheit hatten, während einer großen Epidemie im Frühling 1926 zu untersuchen.

Zu Untersuchungszwecken benutzten wir Material aus dem Nasenrachenraum bei akuten und typischen Grippefällen; wir untersuchten auch Sputa von Grippekranken in verschiedenen Stadien der Krankheit.

Zu unseren Untersuchungen benutzten wir folgende Nährböden:

1) Martinsche Bouillon + Traubenzucker. — 2) Martinsche Bouillon + Tauben-, Menschen- oder Kaninchenblut. — 3) Agarplatten mit Tauben- oder Menschenblut. — 4) Agar nach Levinthal.

Wir untersuchten 40 typische Grippefälle. In 25 Fällen gelang

es uns, eine reine Streptokokken-, eher eine Diplostreptokokkenkultur, die in der Mehrzahl der Fälle hämolytische wie zuckerspaltende Eigenschaften besitzt, zu züchten. Diese Streptokokkenart gibt ein typisches Wachstum auf Martin-Bouillon mit Traubenzucker in Form flockiger Niederschläge. Auf Blutagarplatten werden ganz kleine tauförmige Kolonien gebildet, wobei die Hämolyseerscheinung zu beobachten ist. Einige Streptokokkenstämme verändern auffallend die Farbe des Blutnährbodens aus rot ins braun.

Einige der von uns gezüchteten Streptokokkenstämme müssen als Streptococcus viridans angesprochen werden.

In 15 Fällen wurden außer den beschriebenen Streptokokken auch Pneumokokken, Micrococcus catharralis und Bac. fusiformis gezüchtet. In keinem Fall war der B. Pfeifferi nachweisbar.

Mit einer Reinkultur des Streptokokkus immunisierten wir Kaninchen subkutan und intravenös. Während der Immunisierungszeit, die 1 Monat dauerte, wurden 4—5 Injektionen in steigenden Dosen der Kultur ausgeführt. Es erwies sich, daß das Serum des intravenös immunisierten Kaninchens agglutinierende Eigenschaften gegenüber der Reinkultur unseres Streptokokkus gewinnt. Der Agglutinationstiter betrug 1:600—800.

Bei subkutaner Immunisierung werden im Blute des Kaninchens keine Agglutinine gebildet. Zur Anstellung der Agglutinationsreaktion verwendeten wir Bouillonkulturen. Die Kultur wurde ausgewaschen und mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Man muß hinzufügen, daß die subkutane Einverleibung größerer Kulturmengen des Diplostreptokokkus beim Kaninchen Infiltrate an den Infektionsstellen hervorruft, die allmählich verschwinden; das Allgemeinbefinden der Kaninchen leidet dabei nicht.

Die intravenöse Infizierung der Kaninchen ruft ein typisches Bild einer chronischen Intoxikation hervor: die Tiere werden träge, apathisch, auf der Haut und Schleimhaut bilden sich kleine Furunkel, Abszesse und Ulcera trophischer Natur.

Die Aussaat aus dem Herzblute von 2 getöteten Kaninchen ergab eine Reinkultur von Diplostreptokokken. Die Versuche, Kaninchen durch die Schleimhaut des Nasenrachenraumes zu infizieren, ergaben ein negatives Resultat.

Auf Grund unserer vorläufigen Versuche können wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Der von uns aus dem Nasenrachenraum von Grippekranken gezüchtete Diplostreptokokkus spielt unzweifelhaft eine wesentliche Rolle in der Aetiologie der epidemischen Grippe. — 2) Seinen morphologischen und biologischen Eigenschaften nach gehört der Streptokokkus zur Gruppe der hämolytischen Streptokokken. — 3) Der Diplostreptokokkus ist für Kaninchen bei intravenöser Einverleibung pathogen, ruft chronische Intoxikationserscheinungen hervor und ist im Herzblute der infizierten Tiere nachweisbar. — 4) Es ist ein weiteres Studium der Grippeätiologie notwendig.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über das Verhältnis des Präzipitinogens und Hämotoxins des Vibrio Kadiköj und das Unvermögen dieses Toxins, sein spezifisches Antitoxin zu flocken.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien. Diagnostische Abteilung (Abteilungsleiter: Prof. Dr. M. Eisler).]

Von **M. Eisler** und **N. Kovács**.

Eine Reihe von Untersuchungen, angefangen von denen Dehnes und Hamburgers, dann die von Kraus und Pribram, Eisler und Tsuru, Landsteiner und Prasek, zuletzt von Eisler beschäftigen sich mit dem Zusammenhange des Serumpräzipitinogens mit dessen Antikörpern. Das übereinstimmende Ergebnis dieser Arbeiten war, daß es unter geeigneten Bedingungen durch Zusatz von spezifischen Präzipitin zu dem Immunserum gelingt, Antikörperverluste, und zwar sowohl von Antitoxinen, Antihämotoxinen, als auch Agglutininen zu bewirken, so daß der Schluß berechtigt war, die Immunkörper stünden in inniger Beziehung zu dem Präzipitinogen, ja wären, wie Landsteiner und Prasek annehmen, sogar mit diesem zu identifizieren. Letztere Autoren fanden bestimmte Verhältniszahlen zwischen dem Antikörpergehalt und der präzipitierbaren Eiweißmenge eines Serums, die geeignet waren, ihre Annahme zu stützen. Jedenfalls ist es nicht möglich, die beiden Körper im Blutserum voneinander zu trennen, ebenso wie es bisher nicht in einwandfreier Weise gelungen ist, die Antikörper ganz eiweißfrei darzustellen, so daß die prinzipielle Frage, ob diese selbst als Eiweißkörper aufzufassen sind oder nur den Serumeiweißkörpern in irgendeiner Form anhaften, noch der endgültigen Lösung harrt.

Außer im Serum findet sich Präzipitinogen auch in den Bakterien vor und stellt einen charakteristischen Bestandteil ihres Leibes dar, insofern es ebenso wie im Blutserum spezifisch für die betreffende Art ist. Es läßt sich sowohl in der Bouillon älterer Kulturen als durch Extraktion der Bakterien mittels Kochsalzlösung darstellen. Auf die gleiche Weise kann auch das Toxin aus den Bakterien gewonnen werden. Das in der Bouillon und das in Kochsalzauszügen enthaltene Präzipitinogen kann verschiedene Eigenschaften besitzen, wogegen die auf einer der beiden Arten dargestellten Toxine als vollkommen identisch untereinander anzusehen sind, wie Untersuchungen mehrerer Autoren dartun und in ausführlicher Weise eine vor kurzem von uns publizierte Arbeit zeigt.

Gewisse Bakterienpräzipitinogene unterscheiden sich insofern vom Serumpräzipitinogen, als sie, wie namentlich die Versuche von E. P. Pick zur Reindarstellung derselben nachgewiesen haben, infolge ihrer chemischen Eigenschaften und ihrer großen Resistenz nur ein niederes Spaltprodukt der Eiweißkörper repräsentieren dürften. Allerdings waren solche Körper zur Immunisierung nicht geeignet. Da also sowohl Präzipitinogen als Toxin einen Bestandteil des Bakterienleibes darstellen, schien es uns von Interesse, das gegenseitige Verhältnis dieser beiden

Körper zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wählten wir Bouillonkulturen des Vibrio Kadiköj, die in den meisten Versuchen in der Weise zur Verwendung kamen, daß die 10tägigen karbolisierten Kulturen mehrmals durch Papier filtriert und hierauf zur möglichst vollständigen Entfernung der noch vorhandenen Keime solange zentrifugiert wurden, bis ganz klare Flüssigkeiten resultierten. Diese enthielten sowohl reichlich Präzipitinogen als auch Hämotoxin.

A. Versuche mit älteren agglutinierenden Sera.

Bestand ein inniger Zusammenhang zwischen den beiden erwähnten Körpern, nämlich dem Präzipitinogen und Hämotoxin, so mußte durch Zusatz eines spezifischen fällenden Serums zur Bouillon eine Toxinabnahme in Erscheinung treten, so wie im Blutserum durch Hinzufügen eines geeigneten Präzipitins Antikörperverluste beobachtet werden. Wir verwendeten zu solchen Versuchen durch Injektion von Choleravibrionen von einer Ziege oder einem Pferde gewonnenes Immunserum. Das Ziegenserum agglutinierte den Vibrio Kadiköj bis zur Verdünnung 1:8000, das Pferdeserum bis 1:4000. Wir versetzten je 2 ccm der Bouillon mit fallenden Mengen des agglutinierenden Serums, meistens angefangen von 0,25 ccm. Als Kontrolle stellten wir die gleichen Proben auf mit einem agglutinierenden Paratyphus-Ziegenserum, oder einem Tetanus-Pferdeserum. Selbstverständlich haben wir vor Aufstellung dieser Versuche geprüft, ob die betreffenden Sera antihämolytisch wirken, wodurch ein Hämotoxinverlust vorgetäuscht werden konnte.

Prüfung auf Antilysin.

Je 0,01 ccm Kadiköj-Bouillon wurden gemischt mit den angegebenen Serummengen, $1/2$ Std. bei 36° gehalten und dann mit je 1 ccm 5proz. Kaninchenblut versetzt. Eine gleiche Portion des Toxins ließen wir ohne Serumzusatz auf das Blut einwirken.

Tabelle 1.

Serummenge	0,5	0,3	0,1
Cholera-Ziegenserum	f. K.	f. K.	K.
Paratyphus-Ziegenserum	0	Sp.	K.
Cholera-Pferdeserum	0	Sp.	K.
Tetanusserum	Sp.	f. K.	K.

Ablesung nach 1 Std. bei 36°. Toxin ohne Serumzusatz hatte nach dieser Zeit ebenfalls komplett gelöst.

Die beobachteten Hemmungen waren also nur angedeutet und durch andere Sera ebenso stark wie durch Cholera-Pferdeserum, für das Cholera-Ziegenserum überhaupt nicht vorhanden. Jedenfalls konnte, da selbst 0,3 ccm der betreffenden Sera noch nicht einmal eine lösende Dosis vollständig hemmten, diese schwache Hemmung bei 2 ccm Toxin gleich 200 lösende Dosen für einen eventuellen Lysinverlust gewiß keine Rolle spielen.

Präzipitationsversuche.

Nach dieser Feststellung konnten wir darangehen die Versuche mit diesen fällenden Sera und den entsprechenden Kontrollen vor-

zunehmen. Da die Versuche mit Ziegen und Pferdeserum gleichsinnig verliefen, wird es genügen einen derartigen Versuch ausführlich wiederzugeben.

Versuch: Je 2 ccm der Kadiköj-Bouillon werden versetzt mit abgemessenen Mengen von agglutinierendem Cholera-Ziegenserum oder Paratyphus-Ziegenserum, das Volumen überall auf 2,5 ccm aufgefüllt und die Röhrchen bei 36° gehalten. Den Verlauf der Reaktion ist aus der folgenden Tabelle zu ersehen.

Tabelle II.

Nr. d. Probe	Serummenge	Toxinmenge	Ergebnis nach Stunden bei 36°	
			1 Stunde	4 Stunden
I	0,25	2,0	**starke Trübung**	**sehr starkes Sediment**
II	0,15	2,0	**mäßige Trübung**	**starkes Sediment**
III	0,125	2,0	„ „	**mittelstarkes Sediment**
IV	0,080	2,0	Spur „	„ „
V	0,070	2,0	„ „	**mäßiges Sediment**
VI	0,035	2,0	0	**geringes „**

Anmerkung: Die in derselben Weise behandelten Proben, welche statt Choleraserum ein nicht spezifisches Serum (Paratyphusserum) enthielten, waren klar geblieben.

Nach eingetretener Flockung, die je nach der Menge des zugesetzten Serums früher oder später und in stärkeren oder geringerem Grade eintrat, haben wir die Flocken abzentrifugiert und einerseits die Sedimente, andererseits die überstehende Flüssigkeit auf Hämolysingehalt untersucht, gleichzeitig auch die Flüssigkeit der Kontrollproben mit Paratyphusserum. Von den Flüssigkeiten kamen die folgenden Mengen gemischt mit je 1 ccm 5proz. Kaninchenblut zur Untersuchung.

Tabelle III.

Nr.	Art und Menge des zugesetzten Serums	Menge der geprüften Flüssigkeit	Grad der Hämolyse
I	0,25 Choleraserum	0,02	**stark**
		0,01	**Spur**
		0,005	0
II	0,15 „	0,02	**f. K.**
		0,01	**Sp. P.**
		0,005	0
III	0,125 „	0,02	**K.**
		0,01	**P.**
		0,005	0
IV	0,035 „	0,02	**K.**
		0,01	**f. K.**
		0,005	**Sp.**
V	0,25 Paratyphusserum	0,02	**K.**
		0,01	**K.**
		0,005	**P.**
VI	0,035 „	0,02	**K.**
		0,01	**K.**
		0,005	**P.**

Das Choleraserum hatte in allen Proben einen Hämatoxinverlust verursacht, der in der Probe I über 50 Proz., in der Probe III 50 Proz. betrug, aber selbst in Probe VI noch deutlich war.

Die Sedimente wurden in der Weise auf ihr Lösungsvermögen geprüft, daß sie nach möglichster Befreiung von Bouillon 3—4mal mit je 3 ccm NaCl gewaschen und dann in je 1 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt wurden. Zu diesen Aufschwemmungen und zu den Waschwassern kamen je 1 ccm 5proz. Kaninchenblut.

Tabelle IV.

Nr.	Waschwasser	Sediment	Grad der Lösung nach	
			1 Std. 36°	12 Std. Zimmertemp.
I	erstes	—	P.	K.
„	zweites	—	Sp.	P.
„	drittes	—	0	0
„	—	in 1 ccm NaCl	stark	K.
III	erstes	—	„	K.
„	zweites	—	P.	stark
„	drittes	—	0	0
„	—	in 1 ccm NaCl	Sp.	f. K.
VI	erstes	—	stark	K.
„	zweites	—	P.	stark
„	drittes	—	0	0
„	—	in 1 ccm NaCl	?	P.

Wie aus dieser Zusammenstellung hervorgeht, haben die Sedimente etwas Gift an rote Blutkörperchen abgegeben, am meisten das Sediment von Probe I, Mengen die im Verhältnis zu dem von ihnen gebundenen Gift allerdings nur sehr gering sind, da es sich nicht einmal um eine ganze lösende Dosis handelte, während 50—100 solche in den Sedimenten enthalten waren. Da aber schon die dritten Waschwässer vollkommen unwirksam waren, kann das auf die Erythrozyten übergegangene Toxin nur aus den Niederschlägen stammen. Nicht in allen derartigen Versuchen war die beobachtete Hämatoxinabnahme ebenso stark wie in den angeführten Versuchsbeispielen, doch fanden wir auch noch beträchtlichere Verluste (bis zu 90 Proz.) und nach 2maligem Zusatz des fällenden Serums war das Lysin so gut wie vollständig aus der Bouillon verschwunden.

Ein Einfluß der Temperatur auf den beschriebenen Vorgang konnte nicht festgestellt werden, wenn die Proben durch längere Zeit (mindestens 12 Std.) entweder bei 37° C oder bei 50° C gehalten wurden, natürlich nur im Vergleich zu der betreffenden Kontrolle, da das Toxin durch längeren Aufenthalt bei höherer Temperatur an und für sich abgeschwächt war.

Nachdem also, von quantitativen Schwankungen abgesehen, in allen diesen Versuchen ein Haemolysinverlust durch Präzipitinzusatz hervorgerufen werden konnte, war zu entscheiden, worauf dieser beruht. In erster Linie dachten wir infolge der von uns eingangs aufgeworfenen Fragestellung daran, daß durch Bindung des Präzipitins an das Präzipitinogen eine Unwirksamkeit des Lysins eintritt, wozu allerdings vorausgesetzt werden muß, daß Toxin und Präzipitinogen in so innigem Zusammenhange stehen, wie Antikörper und präzipitable Substanz im Blutserum.

Filtrationsversuche.

Wäre also das Präzipitinogen der Kadiköj-Vibrionen das Substrat seines Hämotoxins, so müßte man annehmen, daß beim Passieren

der Bouillon durch ein Bakterienfilter beide Körper in gleichem Maße durchgehen oder zurückgehalten werden. Wir haben nun Portionen verschiedener Bouillon-Präparate durch Berkefeldkerzen geschickt und nachher sowohl einen filtrierten als einen nicht filtrierten Anteil auf Präzipitierbarkeit und Lösungsvermögen untersucht. Wir stellen die mit drei verschiedenen Bouillons erhaltenen Resultate in der folgenden Tabelle zusammen (Tab. V). Zu diesem Versuch ist zu bemerken, daß die einzelnen Bouillon-Präparate verschieden alt waren, und auch ungleichen Präzipitinogen- und Hämolysingehalt besaßen. Um den Präzipitinogengehalt festzustellen haben wir je 0,2 ccm eines agglutinierenden Choleraserums gemischt mit fallenden Mengen der Bouillon, wobei das Volumen jeder Probe auf 2 ccm aufgefüllt wurde.

Tabelle V.

Präparat	Präzipitation		Hämolyse	
	filtriert	nicht filtriert	filtriert	nicht filtriert
Bouillon E.	1 ccm: st. Sed.	—	0,08 ccm: 0	0,04 ccm: K.
„ „	0,5 „ sp. Sed.	0,5 ccm: st. Sed.	0,04 „ 0	0,02 „ P.
„ N.	2,0 „ „ „	0,5 „ „ „	0,02 „ f. K	0,02 „ K.
„ „	1,0 „ klar	0,3 „ mittl. Sed.	0,01 „ P.	0,01 „ K.
„ „	—	—	0,005 „ Sp.	0,005 „ P
„ Y.	1,0 „ sp. Sed.	0,1 „ sp. Sed.	0,04 „ 0	0,01 „ K.
„ „	0,5 „ trüb	0,5 „ trüb	—	0,005 „ P.
„ „	0,3 „ sp.-trüb	0,3 „ leicht trüb	—	0,003 „ Sp.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß jedes der 3 Bouillonpräparate bezüglich seines Präzipitinogen- und Lysingehaltes in ganz ungleicher Weise beeinflußt worden war. Vor der Filtration enthielten E. u. N. gleichviel und mindestens 3mal so viel flockbare Substanz als Bouillon J. Nach der Filtration enthielt N viel weniger als E und nur mehr die Hälfte von J., das nichts verloren hatte. Das Lysin betrug in E nur den 4. Teil von den in N. u. J., die beide stark lösten. Nach der Passage durch die Kerze war der Hämotoxingehalt in N. nur auf die Hälfte gesunken und war 16mal größer als in E., mehr als 8mal größer als in J. Für die einzelnen Präparate betrug die Abnahme durch die Filtration bei E. für das Lysin mehr als das 4fache, für das Präzipitinogen jedoch das 7fache. In J. hatte das Lysin sogar mindestens um das 19fache abgenommen, während das Präzipitinogen fast unverändert geblieben war.

Worauf diese ungleichen Filtrationsverluste zurückzuführen sind, ist schwer zu erklären, denn es zeigt sich für sie weder eine Abhängigkeit vom Alter der betreffenden Bouillon, noch von dem Gehalt derselben an den beiden Körpern vor der Filtration. So hatte E., eine alte Bouillon, bei gleichem Präzipitinogengesahlt wie N $^2/_3$, letztere aber $^6/_7$ des Präzipitinogens verloren. Dagegen die ebenfalls frische Bouillon J. so gut wie nichts; vom Lysin E. mit schwächerer Wirkung als die gleich starken Präparate N. u. J. $^3/_4$, N. die Hälfte, J. dagegen $^9/_{10}$. Dieses ganz unregelmäßige Verhalten kann vielleicht in einer individuellen Beschaffenheit der einzelnen Bouillonpräparate begründet sein, und man müßte annehmen, daß die beiden Körper verschieden große Komplexe bilden können, vielleicht durch Anlagerung an andere Körper. Ferner muß auch das verschiedene Adsorptionsvermögen gebrauchter Filterkerzen, die wir zum Teil verwenden mußten, in Betracht

gezogen werden. Jedenfalls sprechen die Versuche gegen einen innigeren Zusammenhang des Hämotoxins mit dem Präzipitinogen.

Versuche mit unspezifischer Präzipitation.

Da es uns aber in zahlreichen Versuchen regelmäßig gelungen ist, durch Zusatz eines fällenden Choleraserums zu der Kadiköjbouillon eine mehr oder weniger beträchtliche Abnahme des Hämotoxins zu bebewirken, so dürfte diese Erscheinung auf eine Adsorption des Blutgiftes, durch die entstehenden Flocken beruhen. Wir haben daher versucht, ob auch andere unspezifische Niederschläge, welche in der Kadiköjbouillon erzeugt werden, im Stande sind das Blutgift zu binden. Zu diesem Zwecke haben wir zu 2 ccm der 5fach verdünnten oder der unverdünnten Bouillon 0,05 ccm Pferdeserum und 0,1 ccm eines Pferdeserum präzipitierenden Kaninchenserums zugesetzt. Zur Kontrolle fügten wir derselben Mischung statt des Pferdepräzipitins 0,1 ccm Typhus-Kaninchenimmunserum hinzu.

In der ersteren Probe trat nach kürzester Zeit Trübung und bald darauf Flockenbildung auf, die zweite blieb andauernd klar. Nach Abzentrifugieren der Flocken wurde die überstehende Flüssigkeit gleichzeitig mit der Kontrollprobe auf Lysingehalt geprüft. Das Sediment wurde 2mal mit je 3 ccm NaCl gewaschen und die beiden Waschwässer, sowie das in 2 ccm NaCl aufgenommene Sediment mit Kaninchenblut versetzt. Das Resultat eines solchen Versuches ist aus Tab. VI zu ersehen.

Tabelle VI.

	1 ccm		0,5 ccm		0,1 ccm		0,5 ccm	
	1ʰ 37°	3ʰ 18°	1ʰ 37°	3ʰ 18°	1ʰ 37°	3ʰ 18°	1ʰ 37°	3ʰ 18°
Bouillon von Präzipitat	Sp.	K.	Sp.	f. K.	—	—	—	—
Kontrolle	—	—	—	—	K.	K.	f. K.	K.
Waschwasser I	stark	f. K.	—	—	—	—	—	—
„ II	0	0	—	—	—	—	—	—
Sediment	0	stark	—	—	—	—	—	—

Das Pferdeserumpräzipitat war befähigt reichlich Hämotoxin zu binden und das gebundene festzuhalten, da es kaum eine lösende Dosis an das zugesetzte Blut mehr abgibt. Es ließ sich somit durch diese Versuchsanordnung genau derselbe Effekt erzielen, wie mit dem auf das Kadiköjpräzipitnogen spezifisch eingestellten Choleraserum.

B. Versuche mit alten antitoxischen Sera.

Es gab aber noch einen anderen Weg, der uns interessierenden Frage über den Zusammenhang zwischen Präzipitinogen und Toxin näher zu treten, nämlich den, die zweite Komponente das Toxin spezifisch zu beeinflussen. Zu diesem Zwecke standen uns verschiedene Serumproben von 2 Pferden zur Verfügung, die mit Bouillontoxin des Vibrio El Tor immunisiert worden war. Das gebildete Antitoxin war auch gegen das Blutgift des Vibrio Kadiköj wirksam. Diese Sera waren schon ungefähr 15 Jahre alt.

Präzipitationsversuche.

Die Auswertung der Sera, welche nicht wesentlich verschieden waren, ergab, daß 0,002—0,003 ccm genügten, um die Lyse durch 0,01 ccm eines Toxins, das ohne Serumzusatz innerhalb 1 Std. komplett löste, vollständig zu hemmen. Wir haben nun mit diesen Sera und der Bouillon des Vibrio Kadiköj genau die gleichen Versuche aufgestellt, wie mit dem Choleraserum, in denen je 2,0 ccm der Bouillon mit fallenden Mengen Serum versetzt wurden. In solchen Versuchen zeigten die antitoxischen Sera Trübungen und bei höherer Konzentration auch Flocken in der Bouillon. Diese wurden abzentrifugiert, nach Waschen in NaCl-Lösung aufgenommen und ebenso wie die überstehende Flüssigkeit auf ihre Wirkung gegen Kaninchenblut geprüft. Es wird genügen, wenn wir ein Versuchsbeispiel wiedergeben, bei dem nur die 2 ersten Proben mit den größten Serummengen angeführt werden und welches besonders instruktiv ist, dadurch, das parallel damit der gleiche Versuch statt mit Antitoxin mit agglutinierendem Choleraserum ausgeführt wurde.

Tabelle VII.

Nr.	Menge des antitox. Serums	Menge des agglut. Serums	Ergebnis nach	
			4 Std. 37°	14 Std. Kühlschrank
I	0,25 ccm	—	Trübung	st. Flockung, Sedim.
II	0,15 „	—	„	Flockung, Sedim.
1	—	0,25 ccm	starke Trübung	sehr starke Flockung, Sedim.
2	—	0,15 „	„ „	starke Flockung, Sedim.

Das antitoxische Serum hatte also in der Bouillon ebenfalls Trübung mit darauffolgender Flockenbildung hervorgerufen; allerdings in schwächerem Grade als das agglutinierende.

Die Prüfung der durch Abzentrifugieren der Flocken erhaltenen klaren Flüssigkeiten, sowie der in NaCl aufgenommenen Sedimente und Waschwässer ergab folgendes Resultat:

Tabelle VIII.

Nr.	Art der Flüssigkeit	Menge der Flüssigkeit	Grad der Hämolyse	
			1 Std.	$2^1/_2$ Std.
I	Abguß vom antitox. Serum	1 ccm	P.	K.
	„ „ „ „	0,2 „	Sp.?	P.
	Waschwasser I	3 „	0	?
	„ II	3 „	0	0
	Sediment	ganzes	0	0
			nach weiteren 15 St. Zimmertemperatur Sp. Lyse	
1	Abguß vom agglut. Serum	0,2 ccm	K.	K.
	„ „ „ „	0,1 „	K.	K.
	„ „ „ „	0,05 „	K.	K.
	„ „ „ „	0,02 „	P.	K.
	Waschwasser I	3 „	0	P.
	„ II	3 „	0	0
	Sediment	ganzes	0	Sp. P.

Anmerkung: Von dem verwendeten Toxin löste 0,01 ccm innerhalb 1 Std. komplett.

Während im Abguß vom Sediment des agglutinierenden Serums noch beträchtliche Toxinmengen — der Verlust betrug über 50 Proz. —

enthalten waren, konnten im Abguß der Probe mit antitoxischem Serum nur mehr Spuren von Hämolysin nachgewiesen werden. Waren doch von den ursprünglich vorhandenen 200 lösenden Dosis nicht einmal zwei übrig geblieben, obwohl die Niederschlagsmenge etwas geringer war als in den gleichen Röhrchen mit agglutinierendem Serum. Das Sediment des letzteren gab noch geringe Toxinmengen an Erythrozyten ab, das des antihämolytischen Serums innerhalb des gleichen Zeitraumes nichts mehr, erst nach längerer Zeit ganz wenig. Durch den Zusatz von 0,25 ccm antitoxischen Serums war also das vorhandene Blutgift fast vollständig neutralisiert. In dieser Probe war auch die stärkste Trübung mit folgender Flockenbildung zu beobachten. Im Röhrchen mit der Toxindosis und geringeren Serummengen, welche in dem obigen Versuchsbeispiel nicht angeführt sind, trat die Trübung und Flockung erst später und im geringeren Maße auf; bei Zusatz von 0,035 ccm und noch 0,070 ccm Serum blieb die Bouillon auch noch nach längerer Zeit klar.

Da wir also auch mit antitoxischem Serum in der Kadiköj-Bouillon eine Flockungsreaktion erhalten hatten, untersuchten wir, ob dieses auch im Stande war, die Vibrionen selbst zusammenzuballen. Es zeigte sich, daß dieses in der Verdünnung 1:800 innerhalb desselben Zeitraumes die Bakterien agglutinierte wie das verwendete Choleraserum in der Verdünnung 1:4000. Die Agglutination war also 5mal schwächer.

Nachdem auch in dem antitoxischem Serum fällende Antikörper enthalten waren, haben wir einige Proben dieses Serums, welche wahrscheinlich infolge der langen Aufbewahrung schon ihre Flockungsfähigkeit eingebüßt hatten, dazu benützt um zu prüfen, ob noch ihr Bindungsvermögen für Präzipitinogen erhalten war.

Es wurden je 2 ccm Kadiköj-Bouillon versetzt, einerseits mit 0,25 ccm oder 0,15 ccm nicht mehr flockenden antitoxischen Serums, anderseits mit den gleichen Mengen eines Tetanusimmuniserums und 4 Std. bei 36° gehalten. Alle 4 Proben blieben klar. Dann wurden zu allen 4 Proben die den ersten Serumzusätzen entsprechenden Mengen unseres agglutinierenden Choleraserums hinzugefügt und nach 3stdig. Aufenthalt bei 36° und 14stdig. bei Zimmertemperatur angesehen. In den Kontrollröhrchen mit Tetanusserum war ein typisches flockiges Sediment entstanden, die antitoxisches Serum enthaltenden waren klar geblieben. Aus diesem Versuchsausfall muß geschlossen werden, daß das selbst nicht mehr fällende antitoxische Serum sich mit dem Präzipitinogen verbunden und es dadurch die Einwirkung des agglutinierenden Choleraserums entzogen hatte.

Der früher angeführte Parallelversuch mit agglutinierendem und antitoxischem Serum zeigte nur insofern einen Unterschied, als der Abguß der ersteren Probe noch ca. 30—40 Proz. des ursprünglich vorhandenen Hämotoxins enthielt, der der letzteren nur Spuren des Blutgiftes, ein Verhalten, daß ohne weiteres auf die Neutralisation des Toxins durch das zugesetzte Antitoxin zurückgeführt werden kann. In den Versuchen mit agglutinierendem Serum haben wir über das Schicksal des Toxins Aufschluß erhalten und sein Vorhandensein im Sedimente nicht nur indirekt durch seine Abnahme in der Bouillon erschließen können, sondern auch direkt, durch die Transgression desselben aus dem Niederschlag auf zugesetzte Erythrozyten nachweisen können.

Bei den Versuchen mit antitoxischem Serum war die Entscheidung über das Schicksal des Toxins und auch des Antitoxins nicht ohne weiteres zu treffen, denn der Befund, daß nach Abzentrifugieren der Flocken in der überstehenden Flüssigkeit nur ganz geringe Toxinmengen zu finden waren, berechtigt natürlich noch nicht zu dem Schlusse, daß fast das gesamte Toxin im Niederschlage enthalten sei; wäre doch derselbe Befund zu erheben, wenn das Lysin infolge der weitgehenden Neutralisation dem Nachweis fast vollständig entzogen wäre. Jedoch kann unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen, bei welchen Toxin und Antitoxin zusammengebracht wurden, erwartet werden, daß nur eine Verbindung beider, teils im Niederschlag, teils in der überstehenden Flüssigkeit vorkommen wird, nicht aber eines von beiden allein. Infolgedessen mußten Untersuchungen über das Toxin zugleich auch über das Antitoxin und umgekehrt Aufschluß ergeben.

Wir haben zunächst versucht, das Antitoxin im Sediment nachzuweisen. Ein durch Zusatz von 0,2 ccm Kadiköj-Bouillon erhaltenes Sediment wurde in n/100 Säure aufgeschwemmt und 1 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Wir hofften auf diese Weise das Antitoxin frei zu machen und sein Vorhandensein durch Neutralisation von frisch zugesetztem Toxin nachweisen zu können. Derartige Versuche haben kein eindeutiges Resultat ergeben. Ferner haben wir Aufschwemmungen von Sedimenten in physiologischer Kochsalzlösung $^1/_2$ Std. auf 60° C erhitzt um nach Zerstörung des Toxins freies Antitoxin nachweisen zu können. Auch diese Versuche haben kein Ergebnis gehabt, weil die Flocken nicht gelöst waren.

Daher haben wir einen indirekten Weg beschritten um zwischen den beiden bestehenden Möglichkeiten eine Entscheidung zu treffen. Wäre die Toxin-Antitoxinverbindung nicht im Niederschlage, sondern größtenteils in der überstehenden Flüssigkeit vorhanden, so müßte das Anitoxin nach Zerstörung des Toxins durch Erhitzen ohne weiteres nachweisbar sein. 0,2 ccm Antitoxin wurden zugesetzt zu 2 ccm Kadiköj-Bouillon oder zu 2 ccm ungeimpfter Bouillon. Nachdem in der ersteren Trübung und feinste Flocken aufgetreten waren, wurde scharf zentrifugiert, vom Sediment abgegossen und die beiden Flüssigkeiten $^1/_2$ Std. auf 60° C erhitzt. Dann wurden abgemessene Mengen derselben mit je 0,02 ccm Toxin versetzt, $^1/_2$ Std. bei 36° gehalten und hierauf zu jeder Probe 1 ccm Kaninchenblut hinzugefügt (s. Tab. IX).

Tabelle IX.

Art der Flüssigkeit	Menge der Flüssigkeit	Grad der Hämolyse
Kadiköj-Bouillon	0,5 ccm	P.
„ „	0,2 „	K.
„ „	0,1 „	K.
Kontrollbouillon	0,1 „	0
„ „	0,05 „	Sp.
„ „	0,02 „	K.

In der Kadiköj-Bouillon war nicht einmal mehr $^1/_{10}$ des in der Kontrollbouillon vorhandenen Antitoxins nachweisbar, so daß geschlossen werden kann, der Hauptteil des Antitoxins und somit auch des Toxins sei im Niederschlage enthalten. Daß dieser in manchen Versuchen nach längerer Zeit noch ganz schwache Lyse der zugesetzten Erythrozyten

bewirkte, kann damit erklärt werden, daß der Zusatz von 0,2—0,25 ccm Antitoxin zu 2 ccm Kadiköj-Bouillon das vorhandene Toxin noch nicht ganz genau neutralisiert hatte.

Die bisherigen Versuche haben unter anderem gezeigt, daß sowohl mit Bouillonfiltraten des Vibrio El Tor hergestellte antitoxische Sera als auch durch Injektion von Choleravibrionen gewonnene Sera in der mit Vibrio Kadiköj beimpften und von den Keimen befreiten Bouillon Flocken erzeugen, erstere meistens in geringerem Maße als letztere. Die Agglutinationsprüfung je eines solchen Serums ergab für das Choleraserum einen ungefähr 5mal höheren Titer, ein anderes antitoxisches Serum agglutinierte aber mindestens noch in ebenso starker Verdünnung als die Cholerasera. Ferner zeigte sich, daß in dem durch ein agglutinierendes Serum erzeugten Niederschlag ein großer Teil des Hämotoxins so fest gebunden ist, daß nur eine sehr geringe Menge auf zugesetzte Blutkörperchen übergeht.

Da nach unseren Filtrationsversuchen das Präzipitinogen und Hämolysin nicht zusammenhängen, muß es sich bei solchen Versuchen um eine Adsorption des Hämotoxins durch die Flocken handeln, zumal da auch unspezifische Niederschläge solche Lysinverluste hervorgerufen haben.

Versuche über Toxin-Antitoxinfällung.

Das durch antitoxisches Serum hervorgerufene Sediment enthielt den größten Teil des ursprünglich vorhandenen Toxins und Antitoxins. Dieser Befund erfordert eine weitere Untersuchung, insbesondere mit Rücksicht auf die bekannten Arbeiten von Nicolle, Cesari und Debain, sowie von Ramon, die festgestellt haben, daß, wenn Diphtherietoxin und sein Antitoxin unter geeigneten Bedingungen zusammengebracht werden, eine Flockung und zwar zuerst in den genau neutralen Gemischen auftritt, die sie als den sichtbaren Ausdruck der Vereinigung von Toxin und Antitoxin ansehen. Im Anschluß an diese Arbeiten sind eine ganze Reihe von Publikationen über dieses Thema, sowohl von französischen als auch englischen und deutschen Autoren erschienen, die im Ganzen und Großen die Befunde der genannten französischen Autoren bestätigen. Die Mehrzahl dieser Arbeiten beschäftigen sich mit dem Diphtherietoxin; dieselbe Flockungserscheinung wurde aber auch beim Tetanustoxin, beim Rizin und Schlangengift, und neuerdings auch beim Scharlachtoxin beschrieben.

Für uns ergab sich daraus die Frage, ob neben der zweifellos vorhandenen Präzipitation, die durch die fällenden Antikörper des antitoxischen Serums bewirkt wird, nicht auch eine Flockung des außerdem vorhandenen Toxins mit dem Antitoxin stattfindet. Sollte in der Tat eine solche neben der Präzipitation einhergehen, so war zu erwarten, daß nach Entfernung des Toxins die Niederschlagsbindung geringer ausfällt. Zur Verminderung, respektive Zerstörung des Hämotoxins standen uns zwei Mittel zur Verfügung: die Filtration und das Erhitzen. In unseren Filtrationsversuchen (siehe Tab. V) fanden wir Präparate, die nach der Passage der Berkefeld-Kerzen eine sehr wesentliche Abnahme ihrer Lysinmenge und trotzdem so gut wie keine ihres Präzipitinogengehaltes erfahren hatten. Wir geben hier nochmals einen derartigen Versuch wieder, in dem sowohl der Lysin- als auch Präzipitinogengehalt vor und nach der Filtration genauer bestimmt wurden.

Tabelle X.

Präparat	Menge	Präzipitation nach		Hämolyse
		3 Std. 36°	7 Std. Zimmertemp.	
Bouillon filtriert	1 ccm	trüb	trüb	—
„ „	0,5 „	leicht trüb	leicht trüb	—
„ „	0,3 „	Sp. trüb	Sp. trüb	—
„ „	0,1 „	0	0	—
„ „	0,04 „	0	0	ungelöst
Bouillon nicht filtriert	1 „	trüb	stark trüb	—
„ „ „	0,5 „	mäßig trüb	trüb	—
„ „ „	0,3 „	leicht trüb	leicht trüb	—
„ „ „	0,1 „	0	Sp. trüb	—
„ „ „	0,01 „	0	0	K.
„ „ „	0,005 „	—	—	K.
„ „ „	0,0025 „	—	—	P.
„ „ „	0,001 „	—	—	Sp.

Aus diesem Versuche geht neuerdings hervor, daß die Stärke der Präcipitation durch die Filtration kaum abgenommen hatte, obwohl das Hämotoxin nicht einmal mehr $^1/_{40}$ seines ursprünglichen Gehaltes betrug.

Sehr deutlich waren die Versuche mit erhitzter und unbehandelter Kadiköj-Bouillon. Diese verliert schon durch $^1/_2$stdig. Erhitzen auf 60° C vollständig ihre Fähigkeit Blut zu lösen. Von einem nicht erhitzten Präparate genügten noch 0,005 ccm um 1 ccm 5proz. Kaninchenblut in 1 Std. bei 37° komplett zu lösen. Nach der Erhitzung waren selbst 0,2 ccm auch nach 3 Std. nicht mehr im Stande, das zugesetzte Blut zu beeinflussen. Nun wurden abgemessene Mengen der beiden Proben mit je 0,2 ccm antitoxischen Serums versetzt. Der Reaktionsverlauf ist aus der folgenden Tabelle zu ersehen:

Tabelle XI.

Präparat	Menge	Ergebnis nach	
		3 Std. 37°	7 Std. Zimmertemp.
Bouillon 60° erhitzt	0,5 ccm	trüb	stark trüb
„ 60° „	0,3 „	?	trüb
„ 60° „	0,1 „	0	leicht trüb
„ unverändert	0,5 „	trüb	trüb
„ „	0,3 „	0	„
„ „	0,1 „	0	leicht trüb

Trotz Unwirksamkeit des Toxins war die Präzipitinreaktion ganz unverändert geblieben. Immerhin wäre eine Beteiligung des erhitzten und inaktiven Toxins an der Flockenbildung noch möglich gewesen, wie eine solche für das durch Formolzusatz entgiftete Diphtherietoxin (Anatoxin) von Ramon zuerst beobachtet wurde. Voraussetzung einer solchen Beteiligung wäre die erhaltene Bindungsfähigkeit des modifizierten Giftes für sein Antitoxin. Wenn diese noch vorhanden wäre, müßte die Schutzkraft durch vorher zugesetztes erhitztes Toxin beeinträchtigt werden. Wir haben daher verschiedene Mengen Antitoxin mit auf 60° erhitztem Toxin versetzt, $^1/_2$ Std. bei 36° stehen gelassen und dann frisches Toxin hinzugefügt. Nach neuerlicher $^1/_2$stdig. Bindung wurde je 1 ccm 5proz. Kaninchenblut zu-

gegeben. Andererseits wurden dieselben Antitoxinmengen ohne vorherigen Zusatz von erhitztem Gift mit nativem Toxin versetzt.

Tabelle XII.

Antitoxisches Serum	Erhitztes Toxin	Unverändertes Toxin	Ergebnis
0,004 ccm	0,01 ccm	0,02 ccm	P.
0,004 „	0,01 „	0,01 „	O.
0,004 „	—	0,02 „	P.
0,004 „	—	0,01 „	O.
0,003 „	0,01 „	0,02 „	K.
0,003 „	0,01 „	0,01 „	Sp.
0,003 „	—	0,02 „	f. K.
0,003 „	—	0,01 „	Sp.
0,004 „	0,02 „	0,01 „	0
—	—	0,02 „	K.
—	—	0,01 „	f. K.

Das auf 60° erhitzte Toxin hatte die Schutzwirkung des Antitoxins garnicht abgeschwächt, hatte somit seine Bindungskraft vollständig eingebüßt, weshalb eine gänzliche Zerstörung des Hämolysins angenommen werden muß.

Jedenfalls kann auf Grund dieser Ergebnisse ausgeschlossen werden, daß in unseren bisherigen Versuchen, in denen Präzipitinogen und hämotoxinhaltige Bouillon des V. Kadiköj mit antitoxischen Serum zusammengebracht wurde, die hierauf beobachtete Trübung und Flockenbildung zum Teile durch das Toxin hervorgerufen wurde. Diese verdanken vielmehr ihre Enstehung ausschließlich dem gleichzeitig vorhandenen Präzipitinogen der Bouillon und dem fällenden Antikörper des antitoxischen Serums. Durch die entstehenden Flocken wird, wie der in Tab. IX ausgeführte Versuch zeigt, der Toxin-Antitoxinkomplex mitgerissen. Da wir bereits in den Versuchen mit agglutinierendem Choleraserum zeigen konnten, daß das Toxin von den entstehenden spezifischen Niederschlägen gebunden wird — die gleiche Erscheinung wird auch durch Pferdeserumpräzipitate hervorgerufen — war noch zu untersuchen, ob auch eine Bindung des Antitoxins stattfindet.

Zur Entscheidung dieser Frage gaben wir je 0,25 ccm des antitoxischen Serums zu je 2 ccm nicht erhitzter Kadiköj-Bouillon und zu je 2 ccm einer auf 60° erhitzten, die also kein Hämotoxin mehr enthielt; ferner wurden auch 2 ccm ungeimpfter Bouillon mit der gleichen Antitoxinmenge gemischt. Nach 24stdig. Aufenthalt der Proben, bei Zimmertemperatur war die Präzipitinreaktion in den beiden Röhrchen mit Kadiköj-Bouillon, erhitzter und nicht erhitzter, gleich stark; das Röhrchen mit ungeimpfter Bouillon + Serum war natürlich klar geblieben. Durch Zentrifugieren wurde in den beiden ersten Proben ein Sediment erhalten und der Abguß der nicht erhitzten Bouillon auf noch vorhandenes Lysin, der der erhitzten Bouillon und der Bouillonkontrolle auf Antitoxin untersucht. 0,5 ccm des Abgusses der toxischen Kadiköj-Bouillon bewirkten eben noch komplette Auflösung von 1 ccm 5proz. Kaninchenblutes, so daß also fast vollständige Neutralisation erfolgt war. Die Antitoxinauswertung geschah in der üblichen Weise gegen 0,01 ccm Toxin und ist in der folgenden Tabelle angeführt:

Tabelle XIII.

Art der Bouillon	Menge	Ergebnis
Kadiköj-Bouillon auf 60° erhitzt	0,05 ccm	O.
dgl.	0,03 „	P.
„	0,02 „	stark
„	0,01 „	K.
Ungeimpfte Bouillon	0,05 „	O.
„ „	0,03 „	P.
„ „	0,02 „	f. K.
„ „	0,01 „	K.

Von den ursprünglich zugesetzten Antitoxin war also garnichts verloren, so daß eine Bindung des Antitoxins allein nicht stattfinden kann. Erst wenn dieses mit dem Toxin verbunden ist, erfolgt durch Vermittlung des letzteren eine Adsorption des ganzen Toxin-Antitoxinkomplexes.

C. Versuche mit frischen antitoxischen Sera.

Unsere bisherigen Versuche haben gezeigt, daß ein spezifisches antitoxisches Serum, welches gleichzeitig auch Agglutinine und Präzipitine enthält in den Bouillonfiltraten des V. Kadiköj Flocken erzeugt, welche auch Toxin-Antitoxin enthalten, daß aber die Anwesenheit des Toxin-Antitoxinkomplexes im Niederschlage nur auf eine Adsorption desselben an die Bakterienpräzipitate, nicht aber auf einer Flockung des Toxins mit dem Antitoxin an sich zurückzuführen ist. Die angeführten Versuche genügen aber nicht, um die Möglichkeit einer Flockung von Gift und Gegengift überhaupt ausschließen zu können, denn sie wurden mit Sera vorgenommen, die schon 14—15 Jahre alt waren. Nach den Erfahrungen aller Untersucher beeinträchtigt aber das Alter des Toxins und auch des Antitoxins das Zustandekommen der Flockungsreaktion, welche am besten und raschesten erfolgt, wenn beide Komponenten frisch sind.

Präzipitationsversuche.

Mit Rücksicht auf diesen Umstand haben wir uns durch Immunisierung von Kaninchen mit dem Filtrate einer Bouillonkultur des Vibrio Kadiköj Immunsera hergestellt. Die Tiere bekamen subkutan in steigenden Mengen insgesamt 60 ccm des Bouillonfiltrates in ca. 4tägigen Intervallen. Die Auswertung des 8 Tage nach der letzten Injektion erfolgten Aderlasses auf Antitoxin — und Agglutiningehalt, vorgenommen mit dem Hämotoxin und einer Aufschwemmung des V. Kadiköj ergab folgende fast gleiche Werte für 2 derartige Sera:

Tabelle XIV.

Antitoxinprüfung			Agglutinationsprüfung	
Toxinmenge	Serummenge	Ergebnis	Serumverdünnung	Ergebnis
0,01 ccm	—	K.	1: 200 Nr. 258	K.
0,01 „	0,001 ccm Nr. 258	P.	1: 400 „ 258	f. K.
0,01 „	0,0025 „ „ 258	0	1: 800 „ 258	P.
0,01 „	0,005 „ „ 258	0	1:1600 „ 258	Sp.
0,01 „	0,001 „ „ 689	P.	1: 200 „ 689	K.
0,01 „	0,0025 „ „ 689	0	1: 400 „ 689	stark
0,01 „	0,005 „ „ 689	0	1: 800 „ 689	P.

Wurden nun 1—2 ccm der Kadiköj-Bouillon mit abgestuften Mengen der Kaninchensera versetzt, so trat durch entsprechende Mengen sehr rasch Trübung und Flockenbildung ein und zwar am raschesten und reichlichsten nicht bei derjenigen Serummenge, welche gerade zur Neutralisation des Giftes genügte, sondern noch früher und stärker in den Proben mit einem Serumüberschuß; auch die alten Pferdesera verhielten sich in dieser Beziehung analog. Von einer detailierten Wiedergabe der Protokolle können wir hier absehen, da auf diese Verhältnisse noch später zurückgekommen werden wird. Hervorzuheben ist, daß unsere Kaninchensera, trotzdem ihr Agglutinationstiter ein verhältnismäßig niederer war (1:400), viel stärker präzipitierten als alle untersuchten Pferdesera, sowohl ein rein agglutinierendes mit dem Titer 1:4000, als auch 2 antitoxische, von denen eines bis 1:1000, eines aber sogar bis fast 1:16000 die Vibrionen vollständig ausflockte. Diese Ueberlegenheit der Kaninchensera bei der Präzipitation wird zweifellos darauf beruhen, daß sie eben frisch waren, während in den Pferdesera durch das lange Lagern weitgehende Veränderungen ihres kolloidalen Gefüges stattgefunden haben, welche sich weniger bei dem Prozeß der Agglutination, bei dem die beladenen Bakterien ausfallen, als bei dem der Präzipitation, die im Wesen eine Serumflockung darstellt, geltend machen können.

Die durch die alten antitoxischen Pferdesera in der Kadiköj-Bouillon erzeugten Niederschläge enthielten auch die Toxin-Antitoxinverbindung, während Antitoxin allein unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen nicht gebunden wurde. In derselben Weise haben wir auch Versuche mit Kaninchenserum gemacht: 1 ccm Kadiköj- oder Corlu-Bouillon (das ist eine auch karbolisierte und filtrierte Bouillonkultur eines typischen atoxischen Cholerastammes in welcher das Kadiköj-Immunserum ebenfalls Trübung und Flockung hervorrief) wurden mit je 0,2 ccm Kaninchenserum, welche die zur Neutralisation des vorhandenen Hämotoxins erforderlichen Antitoxinmengen enthielten mehrere Stunden stehen gelassen, gleichzeitig mit einer anderen Probe, welche die gleiche Serummenge aber 1 ccm leere Bouillon enthielt. Die in der 1. Probe entstandenen Niederschläge wurden abzentrifugiert, die überstehende klare Flüssigkeit abgegossen ebenso wie die Bouillonprobe zur Zerstörung eventuell vorhandenen Toxins 1 Std. auf 60° C erhitzt und hierauf auf Hemmung der Lysinwirkung untersucht. Nach ½stdig. Aufenthalt der Röhrchen bei 37°, zu welchem Zeitpunkt die Toxinkontrolle vollständig gelöst war, ergab sich folgendes Resultat:

Tabelle XV.

Menge	0,5 ccm	0,3 ccm	0,1 ccm	0,005 ccm	0,025 ccm	0,01 ccm
Kadiköj-Bouillon	0	Sp.	K.	KL.	—	—
Leere Bouillon	—	—	0	0	0	0
Corlu-Bouillon	—	—	0	0	0	0

Während in der Corlu-Bouillon ebenso wie in der unbeimpften Bouillonkontrolle das Antitoxin bei Berücksichtigung der erfolgten Verdünnung unverändert erhalten war, war in der Toxinprobe von den ungefähr 100 ursprünglich vorhandenen Antitoxindosen nur mehr 3 in der über dem Niederschlage befindlichen Flüssigkeit vorhanden,

d. h. also fast alles im Sediment enthalten. Dieser Versuch beweist, daß das Antitoxin allein von dem entstehenden Präzipitat nicht gebunden wird, wie wir es auch mit dem alten antitoxischen Pferdeserum gesehen haben. Nur wenn in der Flüssigkeit auch Toxin enthalten ist, findet sich sowohl beim Pferdeserum als auch bei dem Kaninchenserum diese Verbindung im Flockensediment.

Bei obiger Versuchsanordnung wurde aus dem Fehlen des Antitoxins in der überstehenden Flüssigkeit auf dessen Vorhandensein im Niederschlage geschlossen. Wir versuchten aber dessen Anwesenheit darin auch direkt nachzuweisen, und zwar auf folgende Weise: Sedimente, welche in Proben mit 1 ccm Kadiköj-Bouillon und 0,2 ccm Kaninchenserum entstanden waren, wurden mit physiol. NaCl-Lösung gewaschen, dann in 1,2 ccm n/50 Salzsäure oder Natronlauge gelöst und zur Zerstörung des Toxins $^1/_2$ Std. auf 60° erhitzt. Die in der üblichen Weise vorgenommene Auswertung des Antitoxingehaltes dieser Flüssigkeit ergab in der alkalischen Lösung des Sedimentes beträchtliche Antitoxinmengen. 0,05 ccm, welche infolge der 6fachen Verdünnung des Serums rechnungsgemäß 0,008 ccm Serum enthielten, bewirkten noch Hemmung der Lyse. In der sauren Lösung ließ sich nur eine schwache Antitoxinwirkung nachweisen, weil das Erhitzen in sauren Lösungen wahrscheinlich eine Schädigung des Antitoxins zur Folge hatte.

Der Nachweis der Toxin-Antitoxinverbindung in dem Niederschlage ließ aber noch keine Entscheidung zu, ob tatsächlich eine Flockung des Toxin-Antitoxins stattgefunden hatte, oder ob diese Verbindung nur von dem entstandenen Bakterienpräzipitat mitgerissen worden war.

In unseren, in früheren Abschnitten mitgeteilten Versuchen mit altem antitoxischen Pferdeserum konnten wir eine Toxin-Antitoxin fällung dadurch ausschließen, daß wir durch Filtration zufällig Flüssigkeiten erhielten, welche trotz sehr starker Hämotoxinabnahme noch unveränderte Präzipitation aufwiesen, oder durch Erhitzung das Toxin zerstörten und ebenfalls noch gleich starke Präzipitinreaktion wie in der nicht erhitzten toxischen Bouillon erhielten.

Von einer Wiederholung der Filtrationsversuche haben wir wegen des nicht vorauszusehenden Erfolges abgesehen. Versuche mit erhitzter Bouillon und frischen Sera lieferten aber ein ganz anderes Resultat als die alten Pferdesera.

Versuche über ein thermolabiles und thermostabiles Präzipitinogen und Präzipitin.

Wurde die Kadiköj-Bouillon $^1/_2$ Std. auf 60° erhitzt und dann mit Kaninchenserum versetzt, so war die Präzipitinreaktion im Gegensatz

Tabelle XVI.

Präparat	4 Std. 36°	18 Std. Zimmertemperatur
Toxin nicht erhitzt	Ziemlich viel Sed., zahlreiche Flocken in Flüssigkeit	Viel Sed., Flüssigkeit fast klar
„ auf 52° erhitzt	Ziemlich viel Sed., Flüssigkeit leicht trüb mit kleinen Flocken	Ziemlich viel Sed., kleine Flocken in Flüssigkeit
„ „ 54° „	Wenig Sed., Flüssigkeit trüb	Wenig Sed., Flüssigkeit trüb
„ „ 56° „	trüb	Sp. Sed., Flüssigkeit trüb
„ „ 60° „	trüb	Sp. Sed., Flüssigkeit trüb

zu unseren früheren Befunden mit Pferdeserum viel schwächer als mit nicht erhitzten. Wir geben einen Versuch wieder, in dem Portionen des Bouillonfiltrates je $^1/_2$ Std. auf 52, 54, 56 und 60° C erhitzt wurden. Wir prüften dann sowohl die Flockbarkeit der einzelnen Proben als auch ihr Bindungsvermögen für Antitoxin. Zu je 1 ccm Toxin gaben wir 0,25 ccm Serum. (S. Tab. XVI, S. 532.)

Anschließend lassen wir einen Versuch über die Bindungsfähigkeit dieser erhitzten Toxine folgen, der in der Weise vorgenommen wurde, daß wir je 0,0025 ccm des antitoxischen Kaninchenserums mit 0,01 oder 0,02 ccm der betreffenden Toxine — von dem nicht erhitzten Toxin wurden 0,01 ccm durch 0,0025 ccm Serum knapp neutralisiert — $^1/_2$ Std. bei 36° digerierten, und dann zu jeder Probe 0,01 ccm unverändertes Toxin zusetzten. Nach abermaliger $^1/_2$stdig. Bindungszeit fügten wir je 1 ccm 5proz. Kaninchenblut hinzu.

Tabelle XVII.

	25 Minuten 36°	70 Minuten 36°
0,01 ccm Toxin 60° + 0,0025 ccm Serum	ungelöst	Sp. P.
0,02 „ „ 60° + 0,0025 „ „	„	P.
0,01 „ „ 56° + 0,0025 „ „	„	Sp. P.
0,02 „ „ 56° + 0,0025 „ „	„	P.
0,01 „ „ 54° + 0,0025 „ „	„	P.
0,02 „ „ 54° + 0,0025 „ „	„	K.
0,01 „ „ 52° + 0,0025 „ „	„	P.
0,02 „ „ 52° + 0,0025 „ „	„	K.
NaCl + 0,0025 „ „	„	Sp.
Toxinkontrolle .	komplett gelöst	K.

Aus diesem Doppelversuch geht hervor, daß die Präzipitation und das Bindungsvermögen für Antitoxin in der Kadiköj-Bouillon durch höhere Temperaturen abgeschwächt wird, wobei zu bemerken ist, daß selbst 0,5 ccm des nur auf 52° C erhitzten Toxins auch nach mehreren Std. nicht mehr zugesetztes Blut lösten. Mit steigender Temperatur nahm sowohl die Bindungskraft für Antitoxin als die Präzipitierbarkeit im erhöhen Maße ab, wobei jedoch die Temperatur von 60—56° und von 54—52° fast den gleichen Einfluß auf beide Funktionen hatten. Dieser Parallelismus muß aber nicht im Sinne einer Toxin-Antitoxinflockung gedeutet werden, denn es ist daran zu denken, daß auch das Bakterienpräzipitinogen durch Erhitzen seine Fällbarkeit verliert. Einen Beweis dafür lieferte das Verhalten eines von einer Ziege durch Immunisierung mit typischen Choleravibrionen gewonnenen Serums, welches also kein Antitoxin enthielt. Auch mit diesem Serum war die Flockung in der auf 60° erhitzten Kadiköj-Bouillon wesentlich schwächer als in der nicht erhitzten.

Auf Grund dieses Verhaltens und der in der Literatur vorliegenden Befunde, angefangen von den Arbeiten von Joos, E. P. Pick, Kraus und Joachim, mußten wir an das Vorhandensein zweierlei bezüglich ihrer Thermoresistenz differente Präzipitinogene in der Kadiköj-Bouillon denken. Zur vollständigen Aufklärung der vorliegenden Verhältnisse war es vor allem notwendig, die Erhitzung der Kadiköj-Bouillon auf höhere Temperaturen als 60° auszudehnen, da wir nach den Versuchen von Porges wissen, daß bei dieser Temperatur eine Veränderung des Bakteriennukleoproteids stattfindet, die eine Erschwe-

rung oder Aufhebung der Flockbarkeit bei erhaltener Bindungsfähigkeit bedingt, ein früher als Agglutinoid resp. Präzipitoid bezeichneter Zustand.

Einen weiteren Fortschritt unserer Kenntnisse über den Aufbau des Agglutinogens stellten die Untersuchungen von Weil und seiner Schule dar, die zunächst bei der Fleckfieberagglutination zweierlei, nicht nur bezüglich ihrer Thermoresistenz, sondern auch bezüglich Flockungsweise verschiedene Agglutinogene und ihnen entsprechende Agglutinine feststellten. Ausgehend von ihren bei den Proteusstämmen gemachten Erfahrungen dehnten sie ihre Untersuchungen auch auf die Typhusgruppe aus; weitere Versuche in dieser Richtung, die wir hier nur ganz kurz erwähnen können, liegen vor, von Sachs, Sachs u. Schloßberger, Braun u. Mitarbeiter, Feiler, Csepai, Schiff, so wie von Eisler u. Silberstein. Letztere haben außer zur Entstehungsart der beiden Agglutinogene in Typhusbakterien auch zu ihrer chemischen Charakterisierung Beiträge geliefert.

In unseren weiteren Versuchen haben wir nun die Kadiköj-Bouillon $1^1/_2$ Std. gekocht, wodurch Flocken des koagulierten Eiweißes (Nukleoproteids) entstanden, die abzentrifugiert wurden. Die klare Flüssigkeit wurde dann gleichzeitig mit unveränderter Kadiköj-Bouillon mit dem Kaninchenimmunserum versetzt und beobachtet.

Tabelle XVIII.

1 ccm Bouillon	1 Std. 36°	$3^1/_2$ Std. 36°	8 Std. 36°	14 Std. Zimmertemp.
nicht gekocht + 0,03 ccm Ser.	leicht trüb	zahlreiche Flocken	**Wenig Sed., feine Flocken in fast klarer Flüssigkeit**	**Mäßig Sed., Flüssigkeit klar**
„ „ + 0,01 „ „	0	viele feinste Flocken	**Wenig Sed., Flüssigkeit klar**	**Wenig Sed., Flüssigkeit klar**
„ „ + 0,003 „ „	0	dgl.	**Sp. Sed., Flüssigkeit klar**	**Sp. Sed., Flüssigkeit klar**
„ „ + 0,001 „ „	0	?	**leicht trüb**	dgl.
gekocht + 0,2 „ „	leicht trüb	leicht trüb	**Wenig krümelig. Sed., Flüssigkeit fast klar**	**Häutchenartiges zackiges Sed., Flüssigkeit klar**
„ + 0,1 „ „	sp. trüb	sp. trüb	**leicht trüb**	**Sp. zackiges Sed., Flüssigkeit klar**
„ + 0,03 „ „	0	0	0	0
„ + 0,01 „ „	0	0	0	0

Aus diesem Versuche geht hervor, daß auch in der gekochten Bouillon noch schwache Präzipitation stattfindet, welche sich aber von der in der nicht erhitzten auftretenden deutlich unterscheidet sowohl im Aussehen der Flocken als in der Art des Sediments. Letzteres besitzt neben dem in der Tabelle beschriebenen Aussehen eine größere Konsistenz als das lockere, rundlich begrenzte in der unvorbehandelten Bouillon. Dieser auch noch in dem gekochten Bakterienextrakte flockende Körper kann im Gegensatz zu den thermolabilen, beim Kochen koagulierendem Präzipitinogen, nicht zu den eigentlichen Eiweißkörpern gehören.

Fraglich war es noch, ob die beiden Körper schon ursprünglich in der Kadiköj-Bouillon enthalten waren oder das thermolabile Präzizipitinogen erst durch das Kochen aus dem labilen Komplex entsteht. Spricht schon die Tatsache, daß das unsere mit nicht erhitzten Bouillonfiltraten hergestellten Kaninchenimmunsera auch mit gekochten Filtraten präzipitierten, gegen lezter Annahme, so konnten wir diese auch noch auf andere Weise ausschließen. Wurde nämlich die Kadiköj-Bouillon mit soviel Knochenkohle versetzt, daß je 2 ccm 0,1 g enthielten, 10 Minuten lang geschüttelt und die Kohle darauf abzentrifugiert, so enthielt der klare Abguß nur mehr ungefähr $^1/_3$—$^1/_2$ der ursprünglichen Präzipitinogenmenge. Durch Kochen dieses Abgusses; in dem zum Unterschiede von der Vollbouillon wegen des geringeren Eiweißgehaltes keine Koagulation stattfindet, nimmt sein Flockungsvermögen zwar noch beträchtlich ab, nämlich bis ungefähr $^1/_8$ der nichtgekochten Pörtion, ist aber noch immer ebenso stark wie in der gegekochten Vollbouillon. Entstände nun das thermostabile Präzipitinogen durch Kochen aus dem labilen, so müßte sein Gehalt im Adsorbat, das nur $^1/_3$ des ursprünglich vorhandenen thermolabilen Präzipitinogens enthält, viel geringer sein, so daß auch dieser Versuch das Vorhandensein beider Körper nebeneinander in der Kadiköj-Bouillon beweist.

Aus diesem Verhalten muß angenommen werden, daß auch im Immunserum zweierlei, den beiden Präzipitinogenen entsprechende Präzipitine enthalten sind, wenn auch das dem thermostabilen entsprechende, sei es wegen dessen geringerer Menge in der Kulturbouillon, sei es wegen seines schwächeren Vermögens zur Anregung der Antikörperbildung, nur in bescheidenerem Ausmaße. Nach unseren Beobachtungen scheint dieses letztere beim Lagern der Sera erhalten zu bleiben, ersteres aber unwirksam zu werden, da unsere alten Pferdesera sowohl im auf 60° erhitzten also auch im nicht erhitzten Bouillonfiltrate gleich starke Präzipitation erzeugten, zum Unterschiede von unseren frischen Kaninchensera, die ja mit nicht erhitzter Bouillon viel stärker reagierten.

Zu der Frage betreffend den Zusammenhang von Hämotoxin und Präzipitinogen müssen wir nunmehr neuerdings Stellung nehmen. Auf Grund unserer Filtrationsversuche, die eine ganz ungleichmäßige Abnahme des Lysins und Präzipitinogens ergaben, haben wir die Unabhängigkeit der beiden Körper voneinander angenommen, wobei jedoch infolge der Verwendung alter Sera in diesen Versuchen das Vorhandensein zweierlei Präzipitinogene nicht berücksichtigt wurde. Es wäre nämlich, wenn das Hämolysin mit einer der beiden präzipitablen Körper zusammenhängt, wohl möglich, daß kein strenger Parallelismus zwischen Toxin- und Präzipitinogenabnahme bestünde. Unsere oben angeführten Kohleversuche mit der Kadiköj-Bouillon lassen eine klare Entscheidung dieser Frage zu. Der Abguß einer in der beschriebenen Weise mit Kohle vorbehandelten Bouillon enthielt, wie erwähnt, noch beträchtliche Mengen — $^1/_2$—$^1/_3$ — des ursprünglichen Präzipitinogens. Wir können weiter sagen, daß sich diese Abnahmen so gut wie ausschließlich auf das thermolabile Präzipitinogen erstrecken, da die Präzipitinreaktion in dem gekochten Kohlenabguß und in der gekochten Vollbouillon ungefähr gleich stark war.

Die weitaus bessere Adsorbierbarkeit des thermolabilen Präzipitinogens ist in dessen chemischer Beschaffenheit (Nukleoproteid) begründet, da ja die labileren und größeren Komplexe im allgemeinen leichter

adsorbiert werden als die kleineren Moleküle mit besserer Wasserlöslichkeit, so daß diese bei Anwesenheit der ersteren überhaupt nicht gebunden werden, oder sogar aus ihrer Bindung durch die besser adsorbierbaren Substanzen verdrängt werden können.

Was nun den Hämolysingehalt des Adsorbates betrifft, so war dieser sehr gering, indem gewöhnlich 0,2—0,3 ccm desselben zwar noch Lyse bewirkten, die aber langsamer eintrat als in der Probe mit 0,01 ccm des nicht vorbehandelten Toxins. Da also ca 97 Proz. des Lysins von der Kohle adsorbiert worden war, von dem thermolabilen Präzipitinogen aber nur 50 bis höchstens 60 Proz., kann das Hämotoxin wohl nicht nicht mit diesem zusammenhängen. Noch viel weniger aber ist eine Beziehung zum thermostabilen möglich, da letzteres von der Kohle so gut wie nicht gebunden wurde. Ein Zusammenhang dieser beiden Körper ist übrigens von vornherein schon wegen ihrer verschiedenen Thermoresistenz wenig wahrscheinlich. Wir können daher unsere gemachten Annahmen, daß kein Zusammenhang zwischen Hämotoxin und Präzipitinogen besteht, durch diese ergänzenden Versuche bestätigen.

Versuche über das Fehlen einer Toxin-Antitoxinflockung.

Nachdem wir nun festgestellt haben, daß in dem Filtrate einer Bouillonkultur des V. Kadiköj-Bouillon unabhängig voneinander zwei verschiedene Präzipitinogene und das Hämotoxin existieren, und daß sowohl mit Choleravibrionen als auch mit den Bouillonflitraten des V. Kadiköj erzeugte Immunsera, die neben den fällenden Antikörpern auch Antihämotoxin enthielten, in solchen Filtraten Trübung und anschließend daran Flockung hervorriefen, war bei der Mehrheit der vorhandenen Antigene und Antikörper nicht ohne weiteres zu ersehen, ob diese Flockungsprozesse voneinander verschieden sind oder nicht. Denn nach den bei anderen Giften, Diphtheriegift, Schlangengift usw., und ihren Gegengiften gemachten Beobachtungen mußte man daran denken, daß auch das Antihämotoxin unter geeigneten Bedingungen von seinem Toxin geflockt wird, so daß auch zweierlei Flockungsprozesse nebeneinander ablaufen könnten.

Das Vorhandensein von Toxin-Antitoxin im Niederschlage war nicht beweisend für eine Flockung der beiden Komponenten, sondern konnte auch auf einer Adsorption dieser Verbindung durch die sich bildenden Bakterienpräzipitate beruhen, wie wir eine solche in derartigen Versuchen mit alten antitoxischen Pferdesera annehmen mußten. Diese Versuche waren aber andererseits, wie wir früher schon betont hatten, nicht genügend, um eine Toxin-Antitoxinflockung überhaupt auszuschließen, da ja eine solche infolge des Alters dieser Sera hätte ausbleiben können. Da ferner die bei ihnen verwendete Versuchsanordnung des Erhitzens für die frischen Sera nicht brauchbar war, suchten wir eine endgültige Entscheidung auf eine andere Weise zu treffen.

Zunächst haben wir den Verlauf der Flockung beobachtet, wenn wir toxinhaltige Kadiköj-Bouillon einerseits mit antitoxischen Kaninchenserum, andererseits mit einem antitoxinfreiem, ebenfalls frischem Ziegenimmunserum, das durch Injektionen von typischen Choleravibrionen hergestellt war, versetzten. Ferner führten wir Parallelversuche mit diesen beiden Sera, nicht nur mit Kadiköj-Bouillon,

sondern auch mit einem in der gleichen Weise hergestelltem atoxischen Filtrate einer Bouillonkultur von einem typischen Cholerastamm (Corlu) aus. Bei Berücksichtigung der inividuellen Beschaffenheit und Reaktionsweise der beiden Extrakte und Sera hofften wir aus der Stärke der Flockenbildung erkennen zu können, ob neben der spezifischen Bakterienpräzipitation noch eine Toxin-Antitoxinflockung einhergeht. Wir geben nun eine Zusammenstellung einer derartigen Versuchsreihe wieder, in der je 1 ccm der beiden Bouillonfiltrate mit verschiedenen Mengen der beiden Sera versetzt wurden.

Tabelle XIX.

A. Kaninchenserum.

iltrat	Menge des Serums	1 Std. 36° C	3 Std. 36° C	5 Std. 36° C	8 Std. 36° C	14 Std. Zimmertemperatur
li jö	0,5 ccm	sehr stark trüb	sehr viel Sediment, feinste Flockung in trüber Flüssigkeit	wie nach 3 Std.	wie nach 3 Std.	sehr viel Sediment, Flüssigkeit leicht trüb
	0,3 „	stark trüb	ziemlich viel Sediment, feinste Flokkung in trüber Flüssigkeit	—	viel Sediment, Flüssigkeit trüb	viel Sediment, Flüssigkeit leicht trüb
	0,1 „	trüb	mäßiges Sediment, feine Flockung in der Flüssigkeit	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit fast klar	ziemlich viel Sediment, feinste Flokkung in klarer Flüssigkeit	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit klar
	0,03 „	leicht trüb	zahlreiche Flockung	etwas Sediment, zahlreiche Flokkung in der Flüssigkeit	mäßiges Sediment, Flüssigkeit fast klar	mäßiges Sediment, Flüssigkeit klar
	0,01 „	klar	trüb	geringes Sediment, zahlr. Flockung	mäßiges Sediment, Flüssigkeit fast klar	mäßiges Sediment, Flüssigkeit klar
	0,005 „	klar	leicht trüb	Spur Sediment, zahlr. Flockung	geringes Sediment, Flüssigkeit fast klar	wenig Sediment. Flüssigkeit klar
	0,003 „	klar	Spur trüb	Spur trüb	Spur Sediment, zahlreiche feinste Flockung	geringes Sediment, Flüssigkeit klar
	0,001 „	klar	Spur trüb	Spur trüb	Spur Sediment, zahlreiche feinste Flockung	geringes Sediment, Flüssigkeit klar
lu	0,3 ccm	trüb	mäßiges Sediment, feinste Flockung in trüber Flüssigkeit	Ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit fast klar	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit klar	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit klar
	0,1 „	leicht trüb	deutliche Trübung	Spur Sediment, Flüssigkeit trüb	wenig Sediment, Flüssigkeit leicht trüb	mäßiges Sediment, Flüssigkeit klar
	0,05 „	—	Spur trüb	leicht trüb	—	geringes Sediment, Flüssigkeit klar
	0,03 „	klar	klar	klar	klar	Spur Sediment, Flüssigkeit klar
	0,01 „	,,	,,	,,	,,	?
	0,005 „	,,	,,	,,	,,	klar

B. Ziegenserum.

Bouillonfiltrat	Menge des Serums	3 Std. 36° C	3 Std. 36° C	5 Std. 36° C	8 Std. 36° C	14 Std. Zimmertemperatur
Kadi Kjö	0,5 ccm	stark trüb	mäßiges Sediment, feinste Flockung in trüber Flüssigkeit	wie nach 3 Std.	wie nach 3 Std.	ziemlich viel Se[illegible] ment, Flüssigke[illegible] leicht trüb
dgl.	0,3 „	mäßig trüb (feinste Flockung)	dgl.	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit leicht trüb	wie nach 5 Std.	dgl.
„	0,1 „	trüb	mäßiges Sediment, kleine Flockung in der Flüssigkeit	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit fast klar	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit klar	ziemlich viel Se[illegible] ment, Flüssigk[illegible] klar
„	0,05 „	leicht trüb	etwas Sediment, feine Flockung	—	—	mäßiges Sedim[illegible] Flüssigkeit k[illegible]
„	0,03 „	—	geringes Sediment, zahlr. Flockung in der Flüssigkeit	mäßiges Sediment, Flüssigkeit klar	wie nach 5 Std.	dgl.
„	0,01 „	—	Spur Sediment, Flüssigkeit mit Flocken	dgl.	dgl.	„
„	0,005 „	—	trüb	zahlreiche feinste Flockung	Spur Sediment, zahlreiche feine Flockung	wenig Sedimen[illegible] Flüssigkeit klar
„	0,003 „	—	leicht trüb	dgl.	dgl.	dgl.
Corlu	0,3 „	leicht trüb	deutlich trüb	stark trüb	Spur Sediment, stark trüb	Spur Sediment, Flüssigkeit trü[illegible]
dgl.	0,1 „	klar	Spur trüb	trüb	mäßiges Sediment, Flüssigkeit klar	mäßiges Sedime[illegible] Flüssigkeit klar
„	0,05 „	„	klar	leicht trüb	wenig Sediment, Flüssigkeit leicht trüb	mäßig geringes [illegible] diment, Flüs[illegible] keit klar
„	0,03 „	„	dgl.	dgl.	wenig Sediment, Flüssigkeit klar	wenig Sedimen[illegible] Flüssigkeit kla[illegible]
„	0,01 „	„	„	klar	klar	Spur Sediment, Flüssigkeit kla[illegible]
„	0,005 „	„	„	„	„	dgl.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß das Kaninchenserum mit der Kadiköj-Bouillon zwar stärkere Fällungen gab als mit der des Stammes Corlu, daß aber das gleiche Verhalten auch mit dem antitoxinfreiem Ziegenserum beobachtet wurde, diese Differenz mithin auf einem geringeren Präzipitinogengehalt letzterer Bouillon beruhen muß. Ferner zeigte sich, daß das Kaninchenserum in den größten verwendeten Mengen von 0,5 ccm mit der Kadiköj-Bouillon am stärksten reagierte und die Reaktion mit Abnehmen der Serummenge kontinuierlich und deutlich schwächer wurde, ebenso auch mit der Corlu-Bouillon. Mit größeren Mengen Ziegenserum und Choleraextrakt war die Flockung merklich schwächer als mit geringerem — das Optimum war bei 0,1 ccm Serum — die Abnahme der Reaktionsstärke sehr gering. Es findet somit durch größere Mengen Ziegenserum eine Hemmung der Ausfällung statt, die, wenn auch weniger deutlich, auch bei dem Kadiköj-

präparate angenommen werden mußte. Sie dokumentierte sich bei diesem darin, daß die Flockung mit den größten Serumquantitäten nicht stärker war als mit kleineren, sondern nur neben den Flocken auch noch Trübung der Flüssigkeit bestand. Infolge dieser Hemmung einerseits und der sehr geringen Abnahme der Reaktionsstärke andererseits kommt die Erscheinung zustande, daß das Kaninchenserum in größeren Mengen stärker flockt als das Ziegenserum, in kleineren Mengen aber eher das Ziegenserum. Bei Berücksichtigung dieser Eigentümlichkeiten der beiden Sera kann mithin die stärkere Flockung durch größere Mengen Kaninchenserum nicht für das Bestehen einer Toxin-Antitoxinflockung verwertet werden, umso weniger als ja Serummengen, welche mehr als das Doppelte der zur Giftneutralisation erforderlichen betrugen am besten wirkten. Da nun bekanntlich das Optimum der Toxin-Antitoxinflockung bei den am besten studierten Diphtherietoxin gerade beim Neutralisationspunkt liegen soll, wäre unser Befund mit dem Vorhandensein einer solchen Flockung nicht in Einklang zu bringen.

Da diese Versuchsreihe nach unserer Ansicht kein genügend sicheres Ergebnis geliefert hatte, versuchten wir wegen der Wichtigkeit der vorliegenden Frage auf anderem Wege zu einer Entscheidung zu gelangen. Diese wäre natürlich in einwandfreier Weise möglich, wenn es gelingt in der Kadiköj-Bouillon das Gift vom Präzipitinogen zu trennen oder im Kaninchenserum das Antitoxin vom Präzipitin. Wir haben beide Wege versucht.

Wie wir in früheren Versuchen gezeigt haben, ist es möglich, durch Schütteln der Bouillon mit Kohle das Toxin fast vollständig an diese zu binden, wobei noch merkliche Mengen Präzipitinogen im Kohlenabgusse übrig bleiben. Wir haben nun je 1 ccm solchen Abgusses oder der unvorbehandelten Bouillon mit verschiedenen Mengen Kaninchen- oder Ziegenserum versetzt und fortlaufend beobachtet. Mit dem antitoxinfreien Ziegenserum konnte die Flockung nur entsprechend dem verminderten Präzipitinogengehalt schwächer ausfallen, während für das antitoxische Kaninchenserum außer dieser Verminderung des Präzipitinogens noch die Abwesenheit des Toxins in Betracht kommt. Demnach müßte, falls neben der Präzipitation tatsächlich noch eine Toxin-Antitoxinflockung einhergehen sollte, die Abnahme der Reaktionsstärke eine verhältnismäßig viel stärkere sein als mit Ziegenserum. (Siehe Tab. XX, S. 540.)

Wie aus der Tabelle XX zu ersehen ist, war die Abschwächung der Flockungsreaktion im toxinfreien Kohlenadsorbate für Kaninchen und Ziegenserum verhältnismäßig gleich, wobei die Eigentümlichkeit der beiden Sera, wie sie in der Versuchstabelle XIX näher beschrieben wurde, zum Ausdrucke kam. Dieser Verlauf war ganz ebenso ausgesprochen in der toxinhaltigen wie der in der toxinfreien Flüssigkeit, so daß auf das Fehlen einer Toxin-Antitoxinflockung geschlossen werden muß.

Schließlich ist noch über Versuche zu berichten, in denen wir uns bemühten, die fällenden Antikörper aus dem antitoxischen Kaninchenserum möglichst vollständig zu entfernen, ohne seine antihämolytische Kraft herabzusetzen. Dieses Ziel erreichten wir in der Weise, daß wir z. B. in 2 ccm des Serums wiederholt mehrere Oesen einer Agarkultur des atoxischen Cholerastammes Corlu verrieben und nach einiger Zeit die Bakterien jedesmal durch scharfes Zentrifugieren entfernten. Wir verwendeten zur Erschöpfung des Serums

Tabelle XX.

A. Kaninchenserum.

Voll-bouillon	Serum	1 Std. 36°	3 Std. 36°	8 Std. 36°
1 ccm	0,3 ccm	Spur Sediment, feinste Flocken	viel Sediment, feinste Flocken	viel Sediment, feinste Flocken in klarer Flüssigkeit
1 „	0,1 „	sehr dichte feinste Flocken	mäßiges Sediment, feinste Flocken	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit klar
1 „	0,03 „	leicht trüb	trüb	mäßiges Sediment, Flocken in Flüssigkeit
1 „	0,01 „	0	?	wenig Sediment, Flüssigkeit klar
1 „	0,003 „	0	0	Spur Sediment, Flüssigkeit klar
Adsorb. Bouillon				
1 ccm	0,3 „	deutlich trüb	wenig Sediment, Flüssigkeit trüb	ziemlich viel Sediment, Flocken in klarer Flüssigkeit
1 „	0,1 „	trüb	Spur Sediment, feinste Flocken	mäßiges Sediment, Flüssigkeit fast klar
1 „	0,03 „	Spur trüb	leicht trüb	wenig Sediment, einzelne Flocken
1 „	0,01 „	0	Spur trüb	wenig Sediment, Flüssigkeit klar
1 „	0,003 „	0	0	leicht trüb

B. Ziegenserum.

Voll-bouillon	Serum	1 Std. 36°	3 Std. 36°	8 Std. 36°
1 ccm	0,3 ccm	dichte, feinste Flocken	mäßiges Sediment, Flüssigkeit trüb	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit klar
1 „	0,1 „	wenig Sediment, Flocken in Flüssigkeit	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit klar	ziemlich viel Sediment, Flüssigkeit klar
1 „	0,01 „	dichte, allerfeinste Flocken	mäßig wenig Sediment, Flüssigkeit klar	mäßiges Sediment, Flüssigkeit klar
Adsorb. Bouillon				
1 „	0,3 „	leicht trüb	Spur Sediment, Flüssigkeit trüb	mäßig wenig Sediment, Flüssigkeit klar
1 „	0,1 „	leicht trüb	mäßig wenig Sediment, Flüssigkeit trüb	mäßiges Sediment, Flüssigkeit klar
1 „	0,01 „	Spur trüb	wenig Sediment, Flüssigkeit klar	mäßig wenig Sediment, Flüssigkeit klar

auch durch Formalindämpfe abgetötete Vibrionen. In einem derartigen Versuch besaß das so vorbehandelte Serum sein Antihämotoxin noch vollständig, in dem es, so wie das unbehandelte Serum, in der Menge

von 0,0025 ccm die Lyse durch 0,01 ccm Toxin hemmte. Dagegen war sein Agglutinationsvermögen so gut wie aufgehoben und auch die Präzipitinreaktion nur mehr spurenweise vorhanden. Versetzten wir nämlich je 1 ccm Toxin mit 0,2 ccm des adsorbierten oder unvorbehandelten Serums, so war nach 2stdig. Aufenthalt der Proben bei 50° und mehreren Std. Zimmertemperatur die erstere Probe nur mehr oder weniger trüb, in letzteren aber reichliche Flockenbildung vorhanden. Erst mit 0,4 ccm des adsorbierten Serums erhielten wir nach der angegebenen Zeit noch spärliche Flocken. Wir sehen also, daß ein Immunserum, das seine Agglutinine und Präzipitine weitgehend eingebüßt hat, trotz seines unveränderten Antitoxingehaltes kaum mehr Fällungen mit der toxischen Bouillon hervorruft. Die mit größeren Serummengen — Mengen die das Doppelte der zur Neutralisation erforderlichen Antitoxinmengen betrugen — noch auftretenden schwachen Fällungen beruhen nur auf den im Serum noch vorhandenen geringen Präzipitinmengen. Denn wir erhielten nach längerer Zeit auch noch schwache Flockungen, wenn wir eine mit Kohle adsorbierte Kadiköj-Bouillon, die so gut wie kein Hämotoxin mehr enthielt, mit dem vorbehandelten Serum ersetzten.

Schlußbetrachtungen.

Auf Grund der vorliegenden Versuche mit frischen Sera und frischen Toxinen sind wir nunmehr in der Lage, eine Flockung des Antihämotoxins durch das Toxin des Vibrio Kadiköj auszuschließen, auch unter solchen Bedingungen, die bei anderen Antitoxinen und ihren spezifischen Giften, so namentlich beim Diphtheriegift, zur Entstehung von Fällungen am günstigsten sind. Wir glauben, daß diesem Befunde eine besondere Bedeutung deshalb zukommt, weil man sich in letzter Zeit bemüht hat, bei einer ganzen Reihe von Giften Flockungsreaktionen nachzuweisen (Schlangengift, Diphtherie, Tetanustoxin, Rizin, letzhin auch Scharlachtoxin), so daß man vielfach geneigt ist, die beobachtete „Flokulation“ als den sichtbaren Ausdruck der erfolgten Toxinneutralisation anzusehen, die darauf beruhen soll, daß die giftigen Stoffe aus den wirksamen gelösten Zustande in den ungelösten überführt werden. (Vgl. dazu Dold: Diskussionsbemerkung auf der 11. Tagung der deutschen Vereinigung für Mikrobiologie. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. H. 4—7. S. 66.)

Das Ausbleiben einer Antitoxinflockung durch das von uns studierte Kadiköjtoxin kann möglicherweise darauf zurückgeführt werden, daß sich dieses in mehrfacher Beziehung von dem zu derartigen Versuchen am meisten benützten Diphtherietoxin unterscheidet. Abgesehen davon, daß Temperaturen von 60° C außer der blutlösenden Wirkung auch das Bindungsvermögen unseres Hämotoxins aufzuheben imstande waren, wird, wie Versuche von Eisler gezeigt haben, dieses Blutgift auch auf Nährböden einfacher und bekannter chemischer Zusammensetzung gebildet, in denen die Diphtheriebakterien nur sehr schlecht oder überhaupt nicht zum Wachstum gebracht werden können und auch jede Toxinbildung ausbleibt. Schon hieraus geht hervor, daß die Vibrionen bezüglich ihres Stoffwechsels viel anspruchloser sind als die Diphtheriebakterien, aber auch die fertigen toxischen Produkte des V. Kadiköj scheinen einen einfacheren Bau zu besitzen wie die des Diphtherietoxins, wie aus der Einwirkung des Formaldehyds auf diese beiden hervorgeht, Während bei letzteren, wie Eisler und Löwenstein nachgewiesen

haben, nicht nur eine merkliche Abschwächung durch Formolzusatz gelingt, sondern auch, wie spätere Versuche von Ramon gezeigt haben, ein solches Präparat („Anatoxin“) noch mit spezifischem Antitoxin flockt, respektive dieses bindet und infolgedessen sich auch zur Immunisierung benutzen läßt, (Ramon, Loiseau und Lafaille, Bächer, Kraus und Löwenstein), verliert dagegen nach den Versuchen von Eisler und Löwenstein das Vibrio-Hämotoxin mit seiner lösenden Wirkung auf Erythrozyten zugleich auch sein Bindungsvermögen.

Jedenfalls kann aus diesem Ausbleiben der Toxin-Antitoxinflockung geschlossen werden, daß diese nicht das Wesen des Neutralisationsprozesses ausmacht, sondern daß dieses die Bindung darstellt. Daneben kann es unter geeigneten Bedingungen bei einer Reihe von Toxinen zu einer sichtbaren Fällung kommen, welche einen von verschiedenen Umständen abhängigen sekundären Vorgang darstellt. Kann doch auch bei den typischen Fällungsreaktionen — Agglutination und Präzipitation — trotz erfolgter Bindung von Antigen und Antikörper die sichtbare Flockung ausbleiben.

In ihren Versuchen über die Flockungsreaktion mit Diphtherietoxin haben Bächer, Kraus und Löwenstein aus Beobachtungen nach denen verschiedene Einwirkungen physikalischer oder chemischer Natur, Sera für die Ausflockung ungeeignet machen, ohne ihr antitoxisches Vermögen wesentlich abzuschwächen, den Schluß gezogen, daß im Antitoxin des Diphtherieserums die antitoxische Fähigkeit mit der präzipitierenden nicht schlechthin identisch ist. Solche Beobachtungen sind nach unseren Darlegungen ohne weiteres verständlich.

Unsere Kadiköj-Bouillon enthielt, wie es bei dem starken Zerfall und den Auflösungserscheinungen der Vibrionen zu erwarten ist, reichlich Präzipitinogen, das eben die beobachtete Flockung hervorruft. Anders verhält sich in dieser Beziehung die Diphtheriebouillon, in der weder Kraus noch Schwoner mit antitoxischem Serum Flockungen erhielten. Dagegen gelang es letzterem, durch Immunisierung mit Kochsalzextrakten aus jungen Diphtheriekulturen Sera zu gewinnen, welche in diesen Extrakten, nicht aber in Filtraten von Bouillonkulturen Niederschläge erzeugten. Auch bei Versuchen über Agglutination von Diphtheriebazillen fand Schwoner, daß die in der üblichen Weise hergestellten antitoxischen Diphtheriesera nur einen geringen Agglutiningehalt aufwiesen. Trotz dieser nicht erkennbaren oder nur schwach ausgeprägten Fällungsreaktion bei Diphtherie — wir sehen dabei von der Toxin-Antitoxinflockung ab — müssen wir berücksichtigen, daß das Bouillonfiltrat eines toxischen Bakteriums neben Toxin, wenn auch eventuell nur in geringer Menge, Präzipitinogen enthält, und daß dieses Filtrat in den Tierkörper eingebracht, neben der Bildung von Antitoxin auch eine solche von rein fällenden Antikörpern hervorrufen muß. Das gleiche gilt auch für nicht bakterielle Gifte, pflanzlicher und tierischer Herkunft, die außer den toxischen auch präzipitinogene Körper enthalten können. Allerdings kann, wie bei den Diphtheriebakterien infolge der geringen Mengen von Präzipitinogen in der antigenhaltigen Flüssigkeit, und demzufolge auch von Präzipitin im Immunserum, und der dadurch bedingten starken Verdünnung der wirksamen Körper eine sichtbare Fällung ausbleiben. Eine solche findet ja auch für das Toxin-Antitoxin nur in bestimmten Konzentrationen statt.

Wenn also auch nach den vorliegenden Erfahrungen die beim Zusammenbringen von Diphtherietoxin und Antitoxin entstehende Flockung nicht auf eine Bakterienpräzipitation an sich zurückgeführt werden kann, sondern dieser dabei nur eine auslösende oder vermittelnde Rolle zukommen kann, wäre auf Grund der oben dargelegten Verhältnisse bei einer nach Mischung von Toxin und Antitoxin auftretenden Flockung immer daran zu denken, ob diese wirklich oder ausschließlich die ausgefällte Toxin-Antitoxinverbindung darstellt, oder wie weit dabei eine reine Präzipitation mitspielt. Beweist ja doch, wie aus unseren Versuchen hervorgeht, das Vorhandensein der Toxin-Antitoxinverbindung im Niederschlage nicht, daß diese die Flockenbildung verursacht hat, sondern es kann sich dabei, wie in unseren Versuchen, um eine Adsorption der Verbindung an die auf andere Weise entstehenden Flocken handeln.

Bemerkenswerter Weise hat diese Adsorption der Toxin-Antitoxinverbindung an das Bakterienpräzipitat nicht zu einer merklichen Vergrößerung desselben geführt, weshalb wir annehmen zu müssen glauben, daß nicht nur, wenn Antitoxin ohne wesentliche Beteiligung von Präzipitin auf die Kadiköj-Bouillon wirkt, sondern auch, wenn beide Antikörper vorhanden sind, keine größeren Komplexe von Gift und Gegengift entstehen.

Es muß aber noch auf einen anderen Umstand hingewiesen werden, der für das Ausbleiben der Toxin-Antitoxinflockung in unseren Versuchen in Betracht kommen könnte. Wir haben nämlich nachgewiesen, daß keines der beiden in der Kadiköj-Bouillon vorhandenen verschiedenen Präzipitinogene einen Zusammenhang mit dem Hämotoxin besitzt. Wie sich in dieser Beziehung das Diphtherie- und andere Toxine verhalten, bedarf einer weiteren Untersuchung, mit der wir noch beschäftigt sind. Es wäre wohl denkbar, daß diese flockenden Toxine mit ihrem Präzipitinogen in Verbindung stehen, so daß mit ihnen durch Vermittlung der, wenn auch geringen Bakterienpräzipitation, die Toxin-Antitoxinflockung zustande kommt. Wenn man diese noch experimentell zu erweisende Möglichkeit gelten lassen will, so wäre auch die Toxin-Antitoxinflockung als Teilerscheinung der Bakterienpräzipitation aufzufassen.

Versuchsergebnisse.

I. Versuche mit alten nur fällenden oder auch antitoxischen Sera.

1) Durch Mischung eines Bouillonfiltrates des Vibrio Kadiköj welches sowohl Präzipitinogen als auch Haemotoxin enthält, mit agglutinierendem Serum entstehen Flocken. Diese enthalten je nach den Versuchsbedingungen wechselnde Mengen — unter Umständen bis zu 90 Proz. — in der Bouillon vorhandenen Toxins und geben nur geringe Quantitäten an zugesetztes Blut wieder ab.

2) Durch Filtrationsversuche konnte ein Zusammenhang zwischen Präzipitinogen und Toxin ausgeschlossen werden, so daß die beobachteten Toxinverluste auf Adsorption durch die entstehenden Flocken zurückgeführt werden müssen. Diese Verluste entstanden daher in der ganz gleichen Weise auch dann, wenn in der Kadiköj-Bouillon

unspezifische Flocken durch Zusatz von Pferdeserum und Pferdepräzipitin hervorgerufen wurden.

3) Auch antitoxischen Cholerasera alten Datums, welche mit Bouillonfiltraten der hämotoxinbildenden El Torstämme hergestellt worden waren und die außer Antitoxin auch fällende Antikörper enthielten, bewirkten in der Kadiköj-Bouillon ebenfalls Flockungen, nach deren Abzentrifugieren die überstehende Flüssigkeit größtenteils oder vollständig für Erythrozyten unschädlich war. Die Sedimente enthielten die Hauptmenge der Toxin-Antitoxinverbindung.

4) Auch wenn das Toxin aus der Bouillon infolge Passage durch Filterkerzen weitgehend oder vollständig entfernt war, erfolgte nach Zusatz des antitoxischen Choleraserums gleich starke Flockung, wie in der nicht vorbehandelten Probe. Das im Sedimente gefundene Toxin-Antitoxin kann daher ebenfalls nur auf einer durch Toxinadsorption vermittelten Bindung dieses Komplexes an das Bakterienpräzipitat beruhen, da das Antitoxin allein nicht gebunden wird.

II. Versuche mit frischen fällenden und auch antitoxischen Sera.

1) Mit Bouillonfiltraten des Vibrio Kadiköj gewonnene frische Kaninchensera besitzen sowohl fällende als auch antihämolytische Antikörper und geben mit der zur Immunisierung verwendeten Bouillon Fällungen. Diese enthalten ebenso wie in den Versuchen mit alten Sera fast das gesamte Toxin-Antitoxin, da sich in der überstehenden Flüssigkeit nur mehr geringe Reste des Antitoxins fanden. Auch durch Lösung des Flockensedimentes in n/50 Natronlauge und Erhitzen der Lösung auf 60° C, behufs Zerstörung des Toxins, ließ sich das Antitoxin nachweisen.

2) Erhitzung der Kadiköj-Bouillon auf Temperaturen von 52 bis 60° vermindert im steigendem Maße nicht nur ihre Fällbarkeit, sondern auch ihr Bindungsvermögen für Antitoxin. Die Abnahme der Fällbarkeit zeigt sich aber auch bei Zusatz eines antitoxinfreien agglutinierenden Choleraserums. Selbst durch längere Zeit gekochte Kadiköj-Bouillon gibt aber noch mit antitoxischem Serum eine, wenn auch im Vergleiche zur nicht erhitzten Bouillon geringere und auch qualitativ verschiedene Flockung. Es existieren nebeneinander zwei verschiedene Präzipitinogene in der Kadiköj-Bouillon, von denen das eine (Nucleoproteid) thermolabil, koagulabel ist und eine größere lockere Flockung ergibt, das andere thermostabil ist und mit spezifischem Serum in kleinen Flocken, die sich zu festhaftenden Sedimenten zusammenballen ausfällt. Durch die Kohlenadsorption lassen sich diese beiden Präzipitinogene ebenfalls unterscheiden. Das thermolabile wird in beträchtlichem Maße von Kohle gebunden, das thermostabile so gut wie nicht. Das Hämotoxin kann mit keinem der beiden Präzipitinogene zusammenhängen, da es durch Kohle fast vollständig adsorbiert wird.

3) Auch mit frischen antitoxischen Sera konnte keine Toxin-Antitoxinfällung erhalten werden. Die nach Zusatz derartiger Sera zur Kadiköj-Bouillon entstehenden Flocken sind nur als Bakterienpräzipitate aufzufassen, welche die Toxin-Antitoxinverbindung adsorbieren; diese Auffassung wird durch folgende Versuchsresultate begründet:

a) Die Flockung ist am stärksten und tritt am raschesten ein mit Serummengen, welche bedeutend größer sind als die zur Neutralisation erforderliche Menge.

b) Die Präzipitation verläuft unter Berücksichtigung der individuellen Eigentümlichkeit der verwendeten Sera und Bouillonfiltrate verhältnismäßig gleich stark, ob nun ein antitoxisches Kaninchenserum oder ein rein agglutinierendes Choleraserum geprüft wird, oder ob toxinhaltige Kadiköj-Bouillon oder toxinfreie Bouillon eines typischen Cholerastammes benutzt wird.

c) Die Präzipitinreaktion zeigte auch dann wieder einen nur der Präzipitinogenabnahme entsprechenden Verlauf, wenn die beiden Serum-Arten zugesetzt wurden, einerseits zu unveränderter Kadiköj-Bouillon anderseits zu einer durch Kohlenasordption des Hämotoxins beraubten Bouillon.

d) Wurden die fällenden Antikörper des antitoxischen Serums durch wiederholte Adsorption mittels atoxischer Choleravibrionen zum größten Teil entfernt, so lieferte ein solches Serum trotz unveränderten Antitoxingehaltes nur mehr nach längerer Zeit eine ganz schwache Flockung, welche auf den Resten noch vorhandenen Präzipitins beruht.

Literatur.

Dehne u. Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1904. — Bächer, Kraus u. Löwenstein, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 42; 1925. — Braun, Berl. klin. Wochenschr. 1918. — Braun u. Salomon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. u. 82. — Braun u. Schäffer, Berl. klin. Wochenschr. 1919; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 89. — Csepai, Münch. med. Wochenschr. 1917. — Eisler u. Tsuru, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6; 1910. H. 4. — Eisler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. — Eisler u. Kovács, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 46; 1926. — Eisler u. Silberstein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 93; 1921. — Eisler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 83; 1919. — Eisler u. Löwenstein, Ibid. Bd. 61. 1911. — Feiler, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 29; 1920. — Joos, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. — Kraus u. Přibram, Ibid. Bd. 36. u. 37. — Kraus, Löwenstein u. Bächer, Wien. klin. Wochenschr. 1924. Nr. 23. — Kraus, Ibid. 1897. — Landsteiner u. Prasek, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6; 1910. — Loiseau et Lafaille, Bull. Assoc. Med. de Paris. 1924. — Nicolle, Cesari, et Debain, Annal. l'Inst. Pasteur. 1922. p. 596. — Pick, E. P., Hofmeisters Beitr. Bd.1. — Porges, Zeitschr. f. exp. Path. u. Therap. Bd. 1; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. u. 40. — Ramon, Compt. Rend. Soc. Biol. Paris 1922; Ann. Pasteur. 1924. — Sachs, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. u. 1918. — Sachs u. Schloßberger, Arb. a. d. Inst. f. exp. Therap. 1910. — Schiff, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. — Schwoner, Wien. klin. Wochenschr. 1902 u. 1903. — Weil u. Felix, Ibid. 1917; Nr. 48: 1918, Nr. 23 u. 36.

Untersuchungen über krankmachende Heubazillen.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf (Vorstand: Prof. Hans Much).]

Von **Rudolf Fleischner,**
Marienbad-Budapest.

Der Heubazillus ist ein überall, besonders aber im Heu vorkommendes Stäbchen, das in seiner Form und Struktur dem Milzbrandbazillus sehr ähnlich ist. Wegen dieser gestaltlichen Uebereinstimmung wurde früher mit dem Heubazillus viel gearbeitet in dem Bestreben, eine krankheitserregende Abart desselben zu züchten. Buchner gelang es nicht, Heubazillen im Kaninchen zum Wachstum zu bringen. Geringe Mengen vertrugen sie ohne erkennbare Schädigung, bei großen Mengen trat aber unter den heftigsten Vergiftungserscheinungen rascher Tod ein. Nach seiner Behauptung soll es Buchner gelungen sein, durch Züchtung auf Blut, d. h. unter Bedingungen ähnlich den im Körper vorhandenen, den Heubazillus in Milzbranderreger umzuzüchten. Diese Möglichkeit wurde aber schon von der zeitgenössischen Kritik bezweifelt. Charrin und de Nittis versuchten es auch vergebens, auf Blutnährboden und mittels Tierdurchgang einen krankmachenden Subtilis zu züchten.

Nachdem dann die die Gestalt betreffenden Eigentümlichkeiten der Heu- und Milzbrandbazillen genauer bekannt waren und es sich zeigte, daß beide durch die Verschiedenheit der Sporen, Länge, Beweglichkeit wohl von einander getrennt werden können, findet man über den Heubazillus lange Zeit nichts in der Literatur, bis der leider so früh verstorbene Prager Bakterio- und Serologe Weil darauf hinwies, daß es ihm gelungen sei, auch mit dem nicht tiergefährlichen Heubazillus im Tierkörper Agressine zu erzeugen. Seine Versuche stützten sich auf die Aggressinversuche von Bail, nach deren Ergebnissen die Kleinlebewesen in 3 Gruppen eingeteilt wurden, und zwar in solche

1) die in den Tierkörper gebracht, stets ein wirksames Aggressin hervorbringen (echte Erreger), 2) die nur dann ein wirksames Aggressin hervorbringen, wenn sie im Körper in größerer Zahl anwesend sind (Halberreger) und 3) die kein oder nur wenig Aggressin erzeugen (Schmarotzer).

Weil gelang es nun bei Meerschweinchen, mit dem gewonnenen Aggressin die tödliche Menge, die ursprünglich 4 Schrägagarkulturen betrug, bis auf $^1/_4$ Oese zu verringern. Er folgerte daraus, daß nicht nur echte und Halberreger Aggressine erzeugen, sondern auch Schmarotzer dann, wenn es gelingt, sie im Körper zur Vermehrung zu bringen und diese so aggressive Wirkung entfalten können. Gleiche Versuche bei Cholera und Dysenterie unternahmen Bail und Kikuchi. Da die Aggressinwirkung auf einer Behinderung der phagozytierenden Wirkung der Leukozyten beruhen sollte, stellten Weil und Nakayano, um die Abgestimmtheit des Subtilisaggressins zu beweisen, Glasversuche an. Auf diesem Wege gelang es ihnen, auch die Abgestimmtheit des

Subtilisaggressins zu beweisen und die Annahme von Wassermann und Citron zu entkräften, daß die Aggressivität der Ausschwitzungen auf gelösten Bakterienleibesbestandteilen beruhe. Es stellte sich aber auch heraus, daß künstliches Aggressin (= abzentrifugiertes Meerschweinchenserum, in dem bei 37° längere Zeit Subtilis wuchs) die Phagozytose nicht verhindern konnte. Die Phagozytosebehinderung schien darauf zu beruhen, daß das Aggressin mit den Bazillen die Leukozyten schädigt und diese schließlich zur Auflösung bringt. Die Versuche wurden von Gruber und Futaki bestätigt. Für die Abgestimmtheit des Aggressins gelang es Weil, auch bei der Dysenterie den Beweis zu erbringen. Daß zwischen Opsoninverlust und der Freßbehinderung kein Zusammenhang besteht, will er dadurch bewiesen haben, daß eine Phagozytoseunterdrückung auch dann auftrat, wenn er mit Opsonin beladene Bakterien der Wirkung des Aggressins aussetzte.

Im Auftrage und unter Leitung von Herrn Professor Much stellte ich — unabhängig von den Fragestellungen Weils — mit einem im Laboratorium als ständigen Verunreiniger unserer Platten vorhandenen Heubazillus verschiedene Versuche an, die wegen ihrer Neuheit vielleicht auf ein besonderes Interesse Anspruch haben.

Es zeigte sich, daß Stämme dieses in allen Lehrbüchern als nicht ansteckungsfähig angegebenen Bazillus für Meerschweinchen in höchstem Grade virulent sein kann.

Tier 420a wurde, da es nach Einverleibung von 10 Oesen Subtilis (4 Schrägagarröhrchen) in die Bauchhöhle im Sterben lag, entblutet. Bei der Leichenöffnung zeigte sich der später in vielen Fällen beobachtete bezeichnende Befund, der hier, um Wiederholungen zu vermeiden, mit dem nach der Ansteckung eintretenden Zustand der Tiere kurz geschildert sein soll.

Bis $1^1/_2$ Std. nach der später sich als tödlich erweisenden Ansteckung zeigten die Tiere keine Spur einer Erkrankung. Da, wie auf Kommando, begann bei den Tieren plötzlich, meistens noch vor Ablauf der zweiten Stunde Temperaturabfall, Atemnot und eine starke, sehr schmerzhafte Auftreibung des Leibes. In einigen Fällen wurde auch eine Empfindungslosigkeit und zwar stets der hinteren Gliedmaßen beobachtet; dabei lagen die Tiere ganz flach hingestreckt auf dem Bauche. War ein Tier 3 Std. nach der Ansteckung noch nicht krank, so überlebte es diese; war es aber nach 2 Std. erkrankt, so erlag es stets der vorausgegangenen Ansteckung. Der Tod trat dann überwiegend binnen 4 Std. nach der Ansteckung ein, nachdem vorher die starke Spannung des Leibes einer großen Schlaffheit der Bauchdeckenmuskulatur Platz gemacht hatte. Der bezeichnende, stets wiederkehrende Leichenöffnungsbefund war: stark geschwollenes und entzündlich gerötetes Netz, aufgetriebene Därme, Stauungsorgane, am Netz und Dünndarm kleine gelbweiße, aus Eiterzellen bestehende Stippchen; öfters war das Colon transversum am dichtesten mit diesen Stippchen übersät, auch war häufig eine geringere oder stärkere fibrinöse Verklebung der Darmschlingen zu beobachten, starke Rötung der Därme, stets war der Dünndarm mehr entzündlich gerötet als der Dickdarm, der Magen auf das stärkste aufgetrieben und die Gallenblase völlig leer. Dies ist sicherlich darauf zurückzuführen, daß der durch die Entzündung stark gereizte Darm auf die Gallenblasenentleerung einen vermehrten Reiz ausübt. Die Flüssigkeit in der Bauchhöhle war stets mehr oder weniger blutig.

Tier 421 überstand die Einverleibung von 10 Oesen Bacillus Mycoides Much in die Bauchhöhle und wurde nach 24 Stunden zur Aggressingewinnung entblutet.

Wir sehen also, daß der Tod nicht von der Menge, sondern von der Art des eingespritzten Erregers abhängt. Dies will ich nur darum bemerken, weil ja die Menge von 10 Oesen (4 Schrägagarröhrchen) ziemlich reichlich erscheinen kann; es ist aber dabei zu bedenken, daß es sich um angeblich nicht tierkrankmachende Keime handelt.

Tier 457 mußte $3^1/_2$ Std. nach einer Bauchhöhlenansteckung mit 5 Oesen Subtilis ebenfalls entblutet werden.

Tier 425 schien zuerst die Ansteckung zu überleben, starb aber dann im Laufe der Nacht dennoch. — Ratte 1, die ebenfalls 2 Oesen Subtilis in die Bauchhöhle bekam, wie das Tier 425, wurde nach 4 Std. im Sterben liegend entblutet. — Tier 420 überlebte eine Bauchhöhlenansteckung mit 1 Oese Subtilis und wurde dann zur Aggressingewinnung entblutet.

Es galt nun zu sehen, ob der Erreger auch bei Einverleibung unter die Haut ebenso gefährlich sei. Als wir aber dem Tier 431 5 Oesen Subtilis unter die Haut spritzten, trat zwar nach 24 Std. eine starke Schwellung auf, die nach weiteren 24 Std. in Eiterung überging, die Wunde war aber nach 12 Tagen bereits vernarbt. — Tier 437 bekam 5 Oesen Subtilis in 3 ccm 1proz. Milchsäure unter die Haut, die danach auftretende Eiterung war bereits nach 7 Tagen verschorft. Es spricht dies nicht dafür, daß, wie Freund behauptet, Milchsäure die Widerstandsfähigkeit der Tiere gegenüber Ansteckungen herabsetzt.

Wir sehen also, daß die tödliche Menge unseres Heubazillus ein Viertel der von dem Weilschen Stamm ist, sie beträgt 2 Oesen (= $^4/_5$ Schrägagarkultur) bei Einverleibung in die Bauchhöhle, daß die Tiere aber bei Einverleibung des Erregers unter die Haut das Vierfache anstandslos vertragen.

Versuche, die angestellt wurden, um ein Aggressin nachzuweisen, fielen verneinend aus.

Daß aber das Bauchhöhlenexsudat eines an einer Subtilisansteckung gestorbenen Tieres, das also das Aggressin enthalten sollte, auch nicht keimtötend ist, zeigt

Tier 460, das 4 Oesen Subtilis in 3 ccm Bauchhöhlenausschwitzung von Tier 448 bekam (siehe später) und nach 2 Std. starb. Eine Erklärung für die auffallende Erscheinung, daß dieses Tier in der Hälfte Zeit zugrunde ging im Gegensatz zu den anderen, sogar mit größeren Mengen angesteckten Tieren, werde ich in einem anderen Zusammenhang später geben. Dagegen scheint aber das natürliche Meerschweinchenblutserum den raschen Ablauf der durch die Ansteckung bedingten Krankheit etwas zu verzögern, denn

Tier 461, das 4 Oesen Subtilis in 2 ccm normalem Meerschweinchenserum in die Bauchhöhle bekam, starb erst 12 Stunden nach der Ansteckung.

Schon Weil stellte sich die Frage, ohne sie aber beantwortet zu haben, ob der Heubazillentod ein Ansteckungs- oder Vergiftungstod sei. Für Vergiftung spricht außer dem raschen Krankheitsverlauf auch noch die Tatsache, daß das Herzblut der innerhalb 4 Std. gestorbenen Tiere stets keimfrei war.

Um das vermeintliche Gift zu fassen, stellte ich Versuche an, sowohl mit abgetöteten Heubazillen, wie auch mit sterilen Berkefeldfiltraten von Bouillon, in der Subtilis verschieden lange Zeit üppig gewachsen war.

Es ist nicht gelungen, mit den üblichen Verfahren des Giftnachweises ein solches nachzuweisen.

Tier 462 bekam 10 Oesen in die Bauchhöhle;

Tier 428 und 429 je 48000 abgetötete Subtilis-Keime in die Bauchhöhle bzw. unter die Haut, ohne daran zu erkranken. Daraus folgerten wir, daß das Heubazillengift nur bei Anwesenheit von lebenden Bazillen entsteht. Wir dachten an ein Ausscheidungsgift und versuchten daher, ob wir dies nicht in der Bouillon erfassen könnten. Selbstverständlich waren wir uns bewußt

1) daß ein Gift, das vielleicht in der Bouillon vorhanden ist, noch nicht gleich sein muß dem, das der betreffende Krankheitserreger im Körper bildet,

2) daß ein Erreger im Körper sehr wohl Gifte zu erzeugen vermag, wenn diese auch in der Bouillon nicht vorhanden sind. Die

Tiere 430, 432, 1 bekamen je 3 ccm steriles Berkefeldfiltrat einer 3,6 bzw. 11tägigen Subtilisbouillonzüchtung in die Bauchhöhle. Die

Tiere 433, 8. 435 bekamen je 3 ccm keimfreies Berkefeld-Filtrat einer 1-, 4- und 10tägigen Subtilis-Traubenzuckerbouillonzüchtung in die Bauchhöhle. Die

Tiere 452 und 453 bekamen je 3 ccm keimfreies Berkefeldfiltrat einer 0,01proz. Subtilis-Milchsäurebouillonzüchtung in die Bauchhöhle bzw. unter die Haut. Alle diese Tiere blieben ganz gesund, außer dem Tier 453, welches eine keimfreie Wunde bekam, die aber nach 3 Tagen bereits mit einem trockenen Schorfe bedeckt war.

Wir dachten nun daran, daß man vielleicht mit einem der von Wassermann und Ficker beschriebenen Aktivatoren, die neben der Beschleunigung der Hefegärung auch eine solche der Giftbildung in Traubenzuckerbouillonkultur von Fränkelschem Gasbrandbazillus bewirken sollen, ein in der Subtilisbouillon vorhandenes Gift aktivieren könne und gaben daher den

Tieren 434 und 436 je 3 ccm Berkefeldfiltrat einer 1- und 10tägigen Traubenzuckerbouillonzüchtung, ohne aber den gewünschten Erfolg eintreten zu sehen.

Daß trotzdem in der Bouillon irgendwelche abgestimmte Stoffe vorhanden waren, geht daraus hervor, daß, als wir später die Tiere 430 und 434 mit je 4 Oesen Subtilis in die Bauchhöhle impften, beide Tiere in $2^1/_2$ und 3 Std. starben, aber vorher, bis dahin von uns bei Subtilistod noch nie beobachtete klonische Krämpfe und Zuckungen bekamen, was man vielleicht als Folge einer durch die Bouillonvorbehandlung hervorgerufenen Ueberempfindlichkeit deuten könnte.

Daß das Gift auch nicht in der Bauchhöhlenausschwitzung der gestorbenen Tiere vorhanden ist, beweisen uns die Versuche an den

Tieren 424 und 426, die je 1 ccm Bauchhöhlenausschwitzung der nach Subtilis-Ansteckung rasch gestorbenen Tiere 420 und 420a in die Bauchhöhle bekamen, ohne zu erkranken. Die

Tiere 425a und 427a bekamen von denselben Exsudaten je 1 ccm unter die Haut, es zeigte sich aber weder eine Schwellung noch eine andere Reizantwort.

Nachdem wir also sahen, daß wir die Giftwirkung des Heubazillus weder durch den abgetöteten Bazillenleib selbst, durch seine etwaigen Zerfallstoffe oder aber durch Stoffe, die er beim Wachstum in die Bouillon abgeben würde, noch durch Stoffe, die in der Bauchhöhlenausschwitzung an Subtilisansteckung gestorbener Tiere vorhanden wären, erreichen können, bleibt uns durch Ausschließung nichts anderes übrig, als mit Much anzunehmen, daß die Endotoxinbildung eine Lebenserscheinung ist, die also nur dann eintritt, wenn lebende Erreger in den Körper eindringen. Das Endotoxin der Heubazillen wäre also ein nur innerhalb des Körpers entstehendes Verbindungsgift zwischen Erreger- und Körperbestandteilen.

Es war naheliegend, einen Keim, der sich von allen anderen bis jetzt in der Bakteriologie bekannten dadurch auszeichnet, daß er in geringen Mengen überhaupt nicht schadet, in einer größeren Menge aber sofort unter den heftigsten Erscheinungen tötet, ohne daß wir ein Gift nachweisen können, obgleich wir solche plötzlichen Wirkungen nur bei Giften kennen, mit dem bekannten Immunisierungsverfahren zu prüfen. Zu solchen Versuchen ist dieser Keim besonders geeignet, da sich der Wert der Immunisierung ja schon einige Stunden nach der Ansteckung herausstellt.

Das Hauptgewicht legen wir auf die unabgestimmte Vorbehandlung, weil wir annehmen, daß alle Ansteckungen, die einen raschen Krankheitsverlauf zur Folge haben, hauptsächlich durch die unabgestimmten Immunkräfte bekämpft werden. Im Verlauf unserer Untersuchungen bewahrheitete sich auch wieder vollends diese Annahme.

Trotzdem haben wir die abgestimmte Vorbehandlung nicht vernachlässigt. Wir behandelten Tiere also mit folgendem vor

abgestimmt: Tiere 444 und 456 mit Subtilis in die Bauchhöhle,
Tiere 431 und 437 mit Subtilis unter die Haut,
unabgestimmt: Tier 447 mit Menschengalle,
Tier 448 mit Omnadin,
Tier 449 mit Yatren,
Tier 451 mit Milchsäure,
Tier 455 mit Trypaflavin,

Zur Ansteckung wurde eine 24stünd. Agarplattenkultur unseres auch in den früheren Versuchen verwendeten Heubazillenstammes benutzt. Wir gaben absichtlich die doppelte Todesmenge (4 Oesen) in die Bauchhöhle, um den Versuch möglichst einwandfrei zu gestalten. Die Tiere wurden 2 Std. vor der Ansteckung zuletzt vorbehandelt. Die

Kontrolltiere 430 und 434 lagen $2^1/_2$ und 3 Std., nachdem sie mit 4 Oesen angesteckt wurden, im Sterben und wurden entblutet.

Alle anderen Tiere starben in der Nacht nach der Ansteckung, der Ablauf der Erkrankung war aber bei den Tieren nicht der gleiche. Die Unterschiede des Krankheitsverlaufes gaben uns gewisse Fingerzeige, weshalb ich kurz darauf eingehen will.

2 Std. nach der Ansteckung waren am kränksten die Tiere 431, 437, 456 und 432, d. h. alle abgestimmt vorbehandelten Tiere, bei der am nächsten Tage vorgenommenen Leicheneröffnung zeigten auch diese die stärkste Peritonitis. Es ist dies wieder ein Beweis dafür, daß die abgestimmte Immunität dem Tiere leicht zum Verhängnis werden kann, indem die abgestimmten Immunkräfte die Erreger so rasch und in so großer Menge zerlegen, daß der Körper mit der plötzlich erfolgenden massigen Giftüberschwemmung nicht fertig werden kann und der Ansteckung erliegt. Diese Erscheinung ist bereits beschrieben.

Daß aber die abgestimmte Immunität die Widerstandskraft gegen eine Ansteckung in geradezu erschreckender Weise herabsetzen kann, zeigt auch, daß von allen Versuchstieren nur aus dem Herzblute von Tier 431 sich Subtilis in Reinkultur züchten ließ, es kam also nur bei diesen spezifisch vorbehandelten Tiere zu einer Bakteriämie.

Hier will ich auch wieder auf den überraschend frühen Tod des Tieres 460 aufmerksam machen, das Heubazillen im Bauchhöhlenexsudat eines an Subtilisansteckung gestorbenen Tieres erhielt. Auch aus dem Herzblute dieses Tieres ließ sich Subtilis in Reinkultur züchten. Dies muß als sehr auffallend bezeichnet werden, weil wir während unserer vielen Versuche nur zweimal Subtilis im Blute nachweisen konnten, erst bei dem vorher erwähnten Tiere 431 und dann bei diesem. Es dürfte kein Zufall sein, daß gerade bei zwei teils mit dem Erreger direkt, teils indirekt in Berührung gekommenen Tieren die Widerstandskraft so hochgradig herabgesetzt war, daß Bakteriämie eintrat.

Der rasche Tod könnte hier vielleicht darauf zurückzuführen sein. daß im Exsudat dieses spezifisch vorbehandelten Tieres Stoffe vorhanden waren, die den Erreger sehr schnell abzubauen imstande sind und dadurch eine plötzliche unüberwindbare Giftüberschwemmung des Körpers bedingen. Es könnte ja möglich sein, daß es neben dem Aggressin, das die Zellen angreift und so ihre Widerstandsfähigkeit herabsetzt, auch ein solches gibt, das den Erreger angreift und dadurch in kurzer Zeit große

Mengen von giftigen Erregerleibesbestandteilen frei werden. Diese beiden Arten des Aggressins würden sich ja im Tierversuch auf die gleiche Art, nämlich durch die scheinbare Virulenzsteigerung des Erregers kund geben und als Endresultat den Tod des Versuchstieres bedingen. Ich könnte mir auch vorstellen, daß diejenigen Erreger, die den Tod des Tieres durch ihre Vermehrung bedingen (Streptokokken), ein gegen die Körperzellen gerichtetes Aggressin haben, um ihre Phagozytose zu verhindern und die durch Endotoxine wirksamen Bakterien ein gegen sich selbst gerichtetes Aggressin erzeugen (oder den Körper zur Erzeugung eines solchen anregen), um so ihre Gifte, die ja eben ihre tödliche Wirkung bedingen, in größerer Menge und kürzester Zeit freizubekommen. Logisch würde dem nichts im Wege stehen, weil ja im Wechselspiel zwischen Erreger und Körper, wie wir heute jede Infektionskrankheit auffassen, die Schwere der Ansteckung stets von dem Verhalten beider dieser Krankheitskomponenten abhängt, und ein Körper nicht nur dann unterliegt, wenn er nicht mehr reaktionsfähig ist, — sondern der reaktionsfähigste Körper ebenfalls unterliegen kann, wenn ihn die krankmachende Substanz in zu großen Mengen plötzlich überfällt.

Die unspezifisch vorbehandelten Tiere erlagen zwar auch alle der Ansteckung, waren aber 2 Std. nach der Ansteckung verschieden stark erkrankt.

Das am wenigsten kranke Tier war das mit Menschengalle vorbehandelte Tier 447, was als weiterer Beweis für die von Fraenkel und Much gemachte Beobachtung über die immunisatorische Leistungsfähigkeit oder der den Krankheitsablauf verzögernden Wirkung normaler Galle bei gefährlichen Erregern verwendet werden kann.

Es schien also, als ob der Heubazillentod zwar durch abgestimmte Immunisierung wahrscheinlich nicht, aber vielleicht durch unabgestimmte Immunisierung verhindert werden könne. Die Versuche wurden also in dieser Richtung weiter geführt. Die Steigerung der unabgestimmten Immunität kann durch die verschiedensten artfremden Stoffe erreicht werden, die den Körper zu ihrer Abwehr und Ausschaltung anreizen, wodurch offenbar auch gleichzeitig die allgemeinen Abwehrkräfte gereizt werden, die sich dann auch gegen den eingedrungenen Erreger richten können. Von dieser Ueberlegung ausgehend, behandelten wir das

Tier 453 mit Sarcine,
Tier 459 mit Mesentericus, und
Tier 463 mit Hodenlipoid.

Die mit der tötenden Menge von 4 Oesen Subtilis in die Bauchhöhle geimpften Versuchstiere starben alle im Laufe der Nacht. Das Lipoidtier 463 war aber 2 Std. nach der Ansteckung viel weniger krank als die beiden anderen. Später zeigte es dann wiederholte, kurzdauernde Krämpfe. Bei der Leicheneröffnung fanden wir bei diesem Tiere eine ungewöhnlich leichte Peritonitis.

Hier seien auch kurz Ergebnisse von Ortmann erwähnt, die sich im Laufe seiner im gleichen Laboratorium in ganz anderer Richtung angestellten Versuchen zeigten. Es gelang ihm, Meerschweinchen durch Vorbehandlung mit Bacillus mykoides Much sowohl gegen eine Bauchhöhleninfektion mit Subtilis, wie auch gegen das aus diesem gewonnene und von mir noch später ausführlich besprochene Heu-

bazillengift zu immunisieren. Im übrigen sei auf seine gleichzeitige Veröffentlichung hingewiesen.

Durch die merkwürdigen Krankheitserscheinungen beim Tode des Tieres 463 wurde unsere Aufmerksamkeit auf die Lipoide gelenkt und wir behandelten das

Tier 471 mit einer Ovariumlipoidaufschwemmung in die Bauchhöhle vor.

Das mit dieser Lipoidaufschwemmung vorbehandelte Tier blieb nach einer Subtilis-Infektion in die Bauchhöhle, die bei dem Vergleichstier 433 in 3½ Std. zum Tode führte, gesund und munter.

Wir wiederholten diesen Versuch mit dem

Tier 480. Auch dieses blieb nach einer bei den Kontrolltieren 435 und 432 tödlich verlaufenen Ansteckung in die Bauchhöhle mit 2 Oesen Subtilis gesund.

Dies scheint mir eine der wichtigsten Beobachtungen zu sein, die wir im Verlaufe unserer Versuche machen konnten, nämlich die bisher noch nirgends beschriebene Tatsache, daß es durch Vorbehandlung mit einer unspezifischen Lipoidaufschwemmung gelingt, ein Meerschweinchen gegen eine rasch tödlich wirkende Bauchhöhlenansteckung zu schützen.

Dieser Versuch bestätigte uns glänzend die große biologische Wirksamkeit der Lipoide. Die Lipoidaufschwemmung war mit einer Kieselsäureverbindung, die einen feinen kolloidalen Zustand ermöglicht, hergestellt. Diese allein konnte nicht, wie wir uns überzeugten, Tiere schützen (Tier 1).

Da Muchs Forschungen gezeigt hatten, daß die zerlegten Einzelbestandteile der Erreger oft noch sehr wohl immunisieren können, während dies mit dem Verbande der Teile nicht gelingt, zerlegten wir den Subtilis in seine Partialantigene. Much hatte ja seinerzeit dargetan und als biologisches Gesetz gefunden, daß die einzelnen Bestandteile des Erregers sich bei dem Immunisierungserfolg durchkreuzen können, was vom Körper aus gesehen, zuerst verblüffend, vom Erreger aus gesehen, dagegen äußerst verständlich erscheint. Er fand ferner das Gesetz, daß man durch Zerlegung häufig noch einen stark reaktiven Stoff gewinnen kann, der im Verbande nicht wirksam ist, und zeigte, daß sowohl chemische Aufschließung, wie auch Diffusion und Filtration, diese „Aktivierung durch Zerlegung" bewirken kann.

Um aber die sehr widerstandsfähigen Sporen des Heubazillus aufzuschließen, mußten wir die Milchsäure viel stärker als gewöhnlich nehmen (3proz.) und die Aufschließung nicht nur bei 56° vor sich gehen lassen, sondern waren gezwungen, diese dreimal auf eine Dauer von je 20 Minuten bis 85° zu erwärmen. Erst so gelang es uns, die Sporen abzutöten und wenigstens etwas aufzuschließen. Die vegetativen Formen sind leichter aufschließbar. Nach Beendigung des als bekannt vorausgesetzten Zerlegungsverfahrens hatten wir folgende Partigene in der Hand:

R = Rückstand, die in Karbolkochmilchsäure unlöslichen Bestandteile.

L = Lösung, die in Karbolkochmilchsäure gelösten Bestandteile.

Diese Lösung reagiert sauer und bildet einen bei 50° sich lösenden Niederschlag.

A = R nach der Ausziehung mit Alkohol und Aether.

L I = der bei der Neutralisierung von L sich bildende Niederschlag,

L II = die neutralisierte Lösung (L),

F = Fettsäure-Lipoide-Neutralfette, die aus R mit Alkohol und Aether ausgezogen wurden.

Ueber das Partigen LI, das sich in den späteren Versuchen als sehr wichtig erwies, sei einiges gesagt. Wie bereits erwähnt, entsteht es bei Neutralisierung von L als eine feine, schleimartige Trübung, die beim Neutralitäts-, vielleicht aber auch beim isoelektrischen Punkt ausfällt. Beim Erhitzen gibt es dicke Flocken, im Gegensatz zu der Trübung der sauer reagierenden L, die bei Erhitzen verschwindet. Diese Flocken lösen sich aber in Ueberschuß von Säure oder Lauge. Auch die noch ungekochte Trübung ist so löslich, verhält sich also in dieser Hinsicht dem Kasein ähnlich. Die Feststellungen, was dieser Niederschlag eigentlich ist, bereitet große Schwierigkeiten, — er müßte aus Bakterieneiweiß oder Nukleoproteiden, möglicherweise auch aus Agareiweiß bestehen. Im Tierversuch erwies er sich als ungiftig.

Zur Vorbehandlung zwecks Immunisierung benutzten wir die Partigene in folgenden Verdünnungen:

LI 1:80; R 1:40; A 1:1000; F 1:56; LII unverdünnt.

Im Laufe der Vorbehandlung fanden wir, daß die Lösungen L und LII im höchsten Grade giftig sind und die sicher tödliche Menge bei einmaliger Bauchhöhleneinverleibung 3 ccm sei. Siehe

Tiere 483, 486, 494.

Tier 479 bekam wiederholt L II, und zwar zuerst zweimal je $2^1/_2$ ccm, dann einmal $3^1/_2$ ccm in die Bauchhöhle, worauf ein ungefähr 2 Minuten lang dauernder Schock folgte; als es dann 2 Tage später nochmals 4 ccm in die Bauchhöhle bekam, ging es in der Nacht zugrunde. Wir ersehen hieraus 1), daß es eine Gewöhnung an das Gift gibt (dies bestätigen auch die späteren Versuche) und 2), daß sich das Gift ebenso verhält, wie der Erreger selbst, daß nämlich nur ein ganz enger Spielraum zwischen der Menge liegt, die dem Tier überhaupt nicht schadet und zwischen der sicher tödlichen. Hier liegt diese Grenze zwischen $2^1/_2$ und 3 ccm. Zu erwähnen wäre noch, daß dieser Vergiftungstod, was Gewebs- und Organveränderungen betrifft, dieselben Veränderungen hervorruft, wie der Erreger selbst, wie sie also bereits früher geschildert wurden. Aehnliches konnten auch schon amerikanische Autoren berichten, die mittels eines künstlichen Diphtherietoxins dieselben anatomischen Organveränderungen erzeugen konnten, wie diese durch das natürliche Diphtherietoxin verursacht wurden.

Dieses, in die Bauchhöhle eingebracht, so stark wirkende Heubazillengift war, unter die Haut gespritzt, ebenso wirkungslos, wie das bei dem Erreger selbst der Fall ist. Interessant ist auch noch, daß das Gift auch eine damit gespritzte Maus getötet hat, obwohl dies der Bazillus selbst angeblich nicht tun soll.

Wir stehen also vor der biologisch äußerst wichtigen, ja wegweisenden, bei dieser Gelegenheit zuerst gefundenen Tatsache, daß ein Erreger nur lebend tödlich zu sein scheint, daß tote Erreger und Absonderungen ganz ungefährlich sind, daß es aber dennoch durch Aufspaltung in die Partialantigene gelingt, aus dem toten, in dieser Form harmlosen Erreger, ein Gift zu gewinnen, das ebenso wirksam ist, wie es sonst nur der lebende Erreger ist.

Das hieße das Gesetz der „Aktivierung durch Zerlegung" vor Augen geführt. Ein Gesetz, das die moderne Biologie mit den besten Errungenschaften jetzt noch abseits liegender Disziplinen verbindet und das Arndt-Schulzsche Gesetz nicht nur erweitert, sondern darüber hinausführt.

Wir konnten also aus dem Subtilis ein wasserlösliches Gift gewinnen.

Dies scheint in Widerspruch zu stehen mit der Annahme, daß das Endotoxin ein Verbindungsgift wäre, das nur dann entsteht, wenn Erreger in einen Körper eindringen und so Gelegenheit haben, sich mit Körperbestandteilen zu verbinden. Dieser Widerspruch wäre aber (mit vielen anderen in der Endotoxinlehre noch vorhandenen) durch folgende Ueberlegung zu lösen: das Endotoxin besteht möglicherweise aus zwei Komponenten, — aus einer angreifenden und einer abwehrenden.

Ersterer entsteht nur bei Zerlegung des angreifenden lebenden Erregers durch den Körper, wobei dessen giftige Bestandteile sich mit den Körperzellen zu dem Zwecke verbinden, um die Abwehrkraft des Körpers in dem Kampf gegen die Erreger zu schwächen und so den Angriff der Erreger indirekt zu stärken (= angreifende Endotoxinkomponenten). — Die abwehrende Komponente des Endotoxins wäre ein Stoff, der aus dem toten Erreger frei wird, wenn er durch den Körper oder auf irgendeine andere Weise zerlegt wird, der sich gegen die Angriffskraft des Körpers richten würde, um so die weitere Zerlegung zu verhindern. Im ersten Augenblick scheint dies ja paradox zu sein, wenn wir uns aber darüber klar werden, daß sich der Körper einem lebenden Erreger gegenüber prinzipiell grundverschieden verhalten kann, wie gegenüber einem toten, so wird uns dies verständlicher werden.

Bei Ansteckungen mit einem lebenden Keim muß der Körper zunächst abwehren, weil ja die Erreger vom ersten Augenblicke an angreifen, — bei Ansteckung mit einem toten Erreger hat der Körper nichts, wogegen er sich wehren müßte, weil ja tote Erreger nicht angreifen — diese wirken auf ihn nur als Fremdkörper, deren er sich durch Zerlegung entledigen will — er greift sie zu diesem Zwecke an, ohne sich vorher gegen sie verteidigen zu müssen.

Wenn dem so wäre, so wäre es selbstverständlich, daß gerade so, wie sich die Verteidigung des Körpers aus Abwehr- und Angriff zusammensetzt, die wirkenden Kräfte des Erregers auch ähnlich gestaltet wären. Die angreifende Komponente des Endotoxins wäre, vom Erreger aus betrachtet, ein Hieb gegen die Abwehr des Körpers, — die abwehrende Endotoxinkomponente wäre hingegen von Seiten des Erregers die Parade gegen den Angriff des Körpers. Beide Komponente werden nur als Verbindungsgifte wirksam sein.

Dem Einwand, warum dann die toten Erreger die Tiere nicht getötet haben, kann leicht damit begegnet werden, daß die toten Erreger offenbar nur sehr langsam zerlegt und so nicht so viel abwehrende Endotoxine auf einmal frei werden, die den Körper töten könnten. Wenn ich aber die aus dem toten Erreger durch chemische Aufschließung gewonnenen abwehrenden Endotoxine, wie ich unsere L II auffassen würde, einem Tiere einspritze, so bekommt es dieses Gift auf einmal in so großer Menge, daß es der Vergiftung ebenso schnell erliegt, wie dem lebenden Erreger.

Die anderen mit den Partigenen vorbehandelten

Tiere 474 (LI), 475 (R), 476 (A), 477 (E), 478 (A + F ää) wurden später mit je 2 Oesen Subtilis, wodurch die Vergleichstiere 435 und 432 in $1^1/_2$ Std. starben, angesteckt. Aus dem Versuchsprotokoll: „Die Tiere sind nach $1^1/_2$ Std. zwar krank, verhalten sich aber anders, als alle bisher angesteckten Tiere. Sie bewegen sich mehr und haben keinen so stark aufgetriebenen Unterleib“.

Nach 24 Std. lebten nur noch die Tiere 474 und 478.

Den Tod des R-Tieres könnten wir uns dadurch erklären, daß es dem Körper nach R-Einverleibung an einem wirksamen Partialantikörper gegen den Erreger mangelte. Dies würde nur wieder einmal die Muchsche Feststellung bestätigen, daß der Körper gegen einen Erreger nur dann immun ist, wenn er gegen sein giftiges Partigen einen Partialantikörper besitzt. Nun enthält ja R das wasserlösliche Subtilisgift nicht mehr — also konnte der Tierkörper nach R-Einverleibung keine Gegenstoffe gegen das Gift bilden und mußte, obgleich es Gegenstoffe gegen die anderen Erregerbestandteile besaß, der Ansteckung erliegen. Der Erfolg dieses Versuches deckt sich ja mit dem Partigengesetz, daß nicht alle Partialantigene gleichwertig sind.

Das A-Tier, ebenso das F-Tier erlagen auch der Ansteckung, hingegen blieb das mit A + F behandelte Tier am Leben. Es scheint also, daß die immunisatorische Wirkung an die Gegenwart der beiden Bakterienhauptbestandteile A und F gebunden ist, für sich selbst kann keiner eine ausreichende Immunisierung hervorrufen. Es ist dies eine wesentliche Bestätigung der von Much seit langem vertretenen Lehre der Fett-Lipoidantikörper und der Anschauung, daß dem Eiweiß, bei der Immunisierung nicht die Alleinherrschaft gebühre.

Aehnliche Ansichten wurden auch neuerdings von den Amerikanern Warden, Connel und Holly über das Diphtherie- und Bacillus megaterium-Toxin geäußert.

Auch Tier 474, das mit dem ungiftigen Partigen L I vorbehandelt war, überlebte die Ansteckung. Dies zeigt wieder die verschiedene Wertigkeit der Partialantikörper. Nachdem wir die Zusammensetzung dieses Partigens, wie bereits erwähnt, noch nicht kennen, — können wir uns auch über die Natur des durch ihn hervorgerufenen Antikörpers nicht äußern. Nach dieser großen biologischen Wirksamkeit dürfte es aber von Bedeutung sein, dieses Partialantigen nächstens auch einmal chemisch zu bestimmen.

Eine Immunisierung durch Einspritzung unter die Haut versuchten wir bei Ratten mit folgendem Erfolge: Die

Ratte 2 wurde zuerst mit 1:100 verdünnter L II unter die Haut gespritzt und als sie dies, ohne Reizantwort zu geben, vertrug, wurde zu der stärkeren Zusammensetzung 1:10 übergegangen. Nachdem sie 11mal, insgesamt 23 ccm unter die Haut erhalten hatte, bekam sie 3 ccm der unverdünnten L II in die Bauchhöhle. Sie blieb gesund. Wir sind geneigt, dies als eine Giftgewöhnung aufzufassen, was um so merkwürdiger erscheint, als ja L II, unter die Haut gegeben, nicht tödlich wirkt, und auch keine Vergiftungserscheinungen hervorruft.

Ratte 3 wurde mit der sauren Lösung ebenso wie Ratte 2 vorbehandelt. Dieses Tier starb nach Einverleibung von $2^1/_2$ Oesen Heubazillus in die Bauchhöhle. Dieser im Immunisierungssinne negative Versuch würde meines Erachtens ebenfalls die Dualität des Endotoxins beweisen, daß nämlich das in der Lösung aus dem toten Bazillus übergegangene Endotoxin nicht mit demjenigen identisch ist, das aus dem lebenden Erregerleibe im Tierkörper frei wird.

Ratte 4 wird zuerst mit der Verdünnung 1:100, später 1:10 von L I unter die Haut vorbehandelt, erlag aber einer Bauchhöhlenansteckung von $2^1/_2$ Oesen Subtilis binnen 12 Std. Dieser verneinend ausgefallene Versuch spricht nicht unbedingt gegen die immunisatorische Brauchbarkeit von L I, weil ja durch eine Vorbehandlung unter die Haut der Erfolg nicht erreicht zu werden braucht, wie er bei Bauchhöhlenansteckung oft erreicht wird. Die Versuche mit L I konnten aber leider wegen Mangel an diesem Stoff und Tieren weder wiederholt noch nachgeprüft werden.

Ratte 5 wurde ebenso wie Ratte 4 vorbehandelt und dann mit der bisher stets tödlichen Giftmenge von $3^1/_2$ ccm unverdünnter L II in die Bauchhöhle vergiftet. 4 Stunden später zeigten sich bereits die schwersten Vergiftungserscheinungen, so daß wir das Tier bereits entbluten wollten. Wir waren daher am nächsten Morgen nicht wenig überrascht, die Ratte vollständig gesund und munter im Stall zu finden.

Dadurch wurde der Beweis geführt, daß das ungiftige Partigen LI nach Vorbehandlung unter die Haut imstande ist, den Vergiftungstod durch das höchst giftige Partigen L II zu verhindern. Möglicherweise beruht die Schutzwirkung von LI bei Ratte 5 auf dem Umstande, daß wir das Tier erst 2 Wochen nach abgeschlossener Vorbehandlung vergifteten und so dem Körper genügend Zeit zur Verfügung stand, um Gegenstoffe zu bilden, — wozu bei Ratte 4, die sofort nach der Vorbehandlung angesteckt wurde, keine Möglichkeit da war.

Wir behandelten ferner die Tiere
433 mit 17 ccm A in die Bauchhöhle,
490 mit 24 ccm A + Faa in die Bauchhöhle,
435 mit 18 ccm LI in die Bauchhöhle vor und entbluteten sie dann, um ihre Seren mit Komplementablenkung, Ausflockung und Zusammenballung gegen die einzelnen Partigene und den Heubazillus selbst zu prüfen.

Die Titer bei Komplementbindung waren von A 1:1000, F 1:15 verdünnt und von einer Bazillus Subtilis-Aufschwemmung je 0,1 ccm; von dem unverdünnten LII 0,05, von dem unverdünnten LI und den 1:40 verdünnten R je 0,03 ccm.

Die Ausflockungsversuche setzten wir stets mit abfallend verdünnten (1:2,5; 1:5; 1:10; 1:20 und 1:40) Partigenmengen an. Selbstverständlich wurden sowohl bei der Komplementbindung, wie bei der Ausflockung stets die notwendigen Vergleiche mit angesetzt.

Daß in den Seren irgendwelche Veränderungen vorhanden sind, sehen wir schon aus der auffallenden Tatsache, daß alle Seren, in der Verdünnung 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt, mehr oder weniger ausgeflockt haben, weshalb wir die Ergebnisse der Ausflockungsversuche nur vorsichtig verwerten konnten, — nur insofern sie unsere durch die Komplementbindung gewonnenen Ergebnisse zu unterstützen vermögen. Leider war es uns nicht möglich, die Ursache dieser höchst eigenartigen Serumausflockung mit Kochsalz, die ja gewöhnlicherweise nie vorhanden ist, zu verfolgen. Es wird wohl eine Zustandsänderung der Kolloide im Blutserum daran schuld sein. Es wäre zu prüfen, ob diese durch die Vorbehandlung bedingt ist.

Das mit LI vorbehandelte Tier 435 zeigte im Komplementbindungsversuch Abwehrstoffe gegen die Partigene R, LI, LII, A, — dieselben Abwehrstoffe konnten wir auch mit der Ausflockung nachweisen. Die Ausflockung in den ersten zwei Röhrchen von LI war so stark, daß die Röhrchen undurchsichtig waren.

Das mit A vorbehandelte Tier 488 zeigte im Komplementbindungsversuch eine vollständige Hemmung gegen R, LI und LII, und Spuren von Hemmung gegen A und F. Der Ausflockungsversuch brachte dasselbe Ergebnis. — Gegen LI konnten wir wegen Mangel an diesem Partialantigen weder hier noch in den späteren Versuchen prüfen.

Bei dem mit A + Faa vorbehandelten Tiere 490 zeigt das Serum im Komplementbindungsversuch nirgends, nicht einmal in den Vergleichsröhrchen, eine Hemmung. Ob dies an einer ungenügenden Inaktivierung lag, sollte uns ein mit dem Tier 500 angestellter Vergleichsversuch zeigen. Hingegen zeigte das Serum vom Tier 490 im Ausflockungsversuch eine starke Antikörperbildung gegen sämtliche Partigene, — mit dem Erreger selbst war aber nur eine geringe Zusammenballung nachzuweisen.

Das Serum des als Kontrolle mit 35 ccm A + Faa in die Bauchhöhle vorbehandelten

Tieres 500 verhielt sich im Ausflockungsversuch ebenso wie das Serum des Tieres 490. Im Komplementbindungsversuch wich es insofern von diesen ab, als es gegen L I eine vollständige Hemmung zeigte. Auch das Vergleichsröhrchen war gehemmt, so daß wir die vollständige Lösung aller, auch der Vergleichsröhrchen beim Serum des Tieres 490 auf eine ungenügende Inaktivierung beziehen.

Die starke Ausflockung gegen alle Partigene dieser mit A + F vorbehandelten Tierseren scheint uns wieder ein Beweis für die große immunisatorische Bedeutung der Fette zu sein. Die Ausflockung ist sehr viel stärker bei den mit A + F vorbehandelten Tieren als bei den nur mit A vorbehandelten. Ja, sogar die Antikörperbildung gegen A war bei den mit A + F vorbehandelten Tieren eine ganz unvergleichlich stärkere als bei dem nur mit A vorbehandelten Tiere. Also wieder ein Beweis für die Lehre der Fettantikörper, die. den heftigsten Angriffen ausgesetzt, heute von den anfangs skeptischen Forschern als selbstverständlich angenommen wird. Auf die Fettantikörperbildung komme ich später in anderem Zusammenhange noch zurück.

Ich will auch noch darauf hinweisen, daß im Ausflockungsversuch nicht immer die größten Antigenmengen die stärkste Ausflockung zeigten, sondern daß im Gegenteil meistens die Stärke der Ausflockung mit zunehmender Verdünnung steigt. Es dürfte vielleicht auch hier das Arndt-Schulzsche Reizgesetz anwendbar sein.

Um kurz zu wiederholen. Es gelang also: 1) einen äußerst giftigen Subtilisstamm zu züchten, der von einer ganz genau bestimmbaren Grenze an sicher tödlich ist, — unter dieser Grenze aber auf die Versuchstiere überhaupt wirkungslos ist. Auf die untertödliche Menge des Erregers antworten die Tiere nicht mit der geringsten Krankheit; 2) aus diesem Subtilis, giftige und ungiftige Partigene zu gewinnen; 3) das Gesetz der „Aktivierung durch Zerlegung“ dadurch zu stützen, daß es möglich war, aus dem auf die Tiere unwirksamen toten Erreger durch Aufschließung einen höchst giftigen und reaktiven Bestandteil zu gewinnen war; 4) die Tiere gegen die akut tödlich verlaufende Bauchhöhlenansteckung mit Subtilis sowohl durch unabgestimmte (Ovarienlipoid) wie auch durch Partigenvorbehandlung (A+Faa, L I) zu immunisieren; 5) festzustellen, daß die Art der zur Vorbehandlung benutzten Aufschwemmung die immunisatorische Wirksamkeit bestimmt; 6) mit einem für sich ungiftigen Partigen (L I) sowohl dem Ansteckungs- wie auch dem Vergiftungstod durch das giftige Partigen L II vorzubeugen; 7) mit dem giftigen Partigen L II durch wiederholte Einverleibung unter die Haut das Tier so an dieses Gift zu gewöhnen, daß es eine Schädigung durch dieses Gift überlebte; 8) nach Partigenvorbehandlung, im Blute der vorbehandelten Tiere Antikörper gegen die einzelnen Partigene, nicht aber gegen den Erreger selbst nachzuweisen.

Ich habe noch weiterhin Untersuchungen an Menschen angestellt, und zwar Quaddelimpfungen mit L I 1:80, L II 1:10,

R 1:25, A 1:1000, F 1:60, A + F aa, 0,5proz. Karbolkochsalz und 0,7proz. Kieselsäurekarbolkochsalz.

Es zeigte sich, daß nach 24 Std. die F-Quaddel die stärkste Reaktion hervorrief, darauf folgte die A + F-Quaddel, auf diese die L I und erst dann die A-Quaddel. Die zum Vergleich mit Karbolkochsalz und Kieselsäurekarbolkochsalz angelegten Quaddeln blieben ohne Reizantwort. Nach 48 Std. waren nur noch die F-Quaddel deutlich zu sehen. Also auch hier wieder die starke Reaktivität der F-Bestandteile im Vergleich zu dem reinen Bakterieneiweiß, das, allein gespritzt, nach A + F und L II erst die viertstärkste Reaktion gab. Es wurde somit auch durch den Partialantigenquaddelversuch die bereits früher durch die serologischen Versuche gefundene Tatsache bestätigt, daß das Subtilis-F reaktiver ist, als alle anderen Subtilis-Bestandteile.

Ueber die tropischen Eigenschaften des Pockenvirus.

[Aus dem wissenschaftlichen Mikrobiologischen Institute des Volkskommissariats für Gesundheitswesen in Moskau (Direktor: Prof. W. Barikin).]

Von Dr. S. **Minervin** und **A. Schmerling**, Moskau.

Die Angaben der Literatur, welche die Frage über das Schicksal des Vakzinevirus im Organismus nach der Hautvakzination behandelt, stehen miteinander in Widerspruch. Während ein Teil der Verfasser (Prowazek und Halberstädter, Jürgens, Hauser, Mühlens und Hartmann, Süpfle, Paschen u. a.) das Vakzinevirus in den Organen und im Blute der von ihnen untersuchten Tiere nicht finden konnte, gelang es dem anderen Teile der Forscher (Freyer und Vanselow, Barikin, Kompanejez, Sacharow und Barikina, Gamaleia, Hach), denselben ohne besondere Mühe entweder im Blute oder in verschiedenen Teilen der zu untersuchenden Versuchstiere zu finden. Unsere experimentellen Ergebnisse, welche sich auf diese Frage beziehen, wurden an Kaninchen durchgeführt, wobei das Glyzerinvakzin als Infektionsmaterial diente. Das Blut, welches auf den Gehalt an Virus hin untersucht wurde, nahm man aus dem Herzen der Kaninchen während des höchsten Fiebers, 3—4 Tage nach Einimpfung des Vakzins auf eine breite Hautfläche. Das Vorhandensein des Virus im Blutserum wurde durch eine Serumeinspritzung in die Hoden der Kaninchen mit nachfolgender Prüfung der Spezifität der erhaltenen Orchitis und Infektion der Haut des Kaninchens durch das Serum festgestellt. Auf diese Weise wurde das Serum von 5 Kaninchen von uns untersucht, wobei wir das Virus in 3 Fällen fanden. Wir müssen dabei bemerken, daß das Serum, nach dem verschwommenen Bilde des Hautausschlages zu urteilen, eine bedeutende Menge Virus enthielt. Bei derselben Art der Feststellung des Virus in den Organen wurde bei der Untersuchung der verschiedenen Organe ein verschiedenartiges Re-

sultat erhalten. Die Organe wurden bei diesen Versuchen in kleine Stückchen zerschnitten, in Kochsalzlösung gewaschen und in dieser Form auf die Haut aufgetragen und als Emulsion in Kochsalzlösung in die Hoden eingeführt. Die Organe wurden ebenso, wie bei den Versuchen mit Blutserum während der höchsten Temperatur untersucht. Zu den Versuchen wurden folgende Gewebe genommen: Plazenta, Gebärmutter, Milz, Muskel, Gehirn, Nieren, Leber und Haut. Die Ergebnisse dieser Versuche sehen wir in folgender Tabelle:

Charakter des Gewebes	Zahl der Versuche	Resultat der Infektion		Anmerkungen
		positiv	negativ	
Gehirn	13	6	7	**Ausschlag in Form einzelner Papeln und Pusteln**
Haut	3	3	—	dgl.
Milz	3	—	3	
Leber	3	—	3	
Niere	2	—	2	
Placenta	3	3	—	**Scharf ausgeprägter verschwommener Ausschlag**
Gebärmutter	2	—	2	
Muskel	3	—	3	

Auffällig ist es, daß das Virus sich in so blutarmen Geweben, wie es das Gehirn und die Haut sind, befindet, während es in der Leber und der Milz, beides vollblütige Organe, fehlt. Augenscheinlich wurde die Verteilung des Virus auf die einzelnen Organe in unseren Fällen nicht nur durch das Vorhandensein des Virus im Blute, sondern auch durch den Charakter des Gewebes bedingt. In 2 Fällen erwies es sich, daß das Gehirn das Virus enthielt, während es im Blute fehlte. Da wir aus diesen Versuchen schlossen, daß das Virus sich nach der Vakzination der Haut während einer bestimmten Periode im Blute befindet und auch in einigen Organen gefunden werden kann, versuchten wir, festzustellen, welche Bedingungen die Einverleibung des im Blute zirkulierenden Virus in einem oder dem anderen Gewebe begünstigen. Die bis jetzt gemachten Beobachtungen zeigen, daß eines dieser Momente die Verletzung der Gewebe bildet, zu welchen das Vakzinevirus eine ausgeprägte Affinität hat.

Hierher gehören die alten Versuche von Calmette und Guérin über die spezifische Verletzbarkeit der beschädigten Haut nach Einführung des Virus ins Blut, ähnliche Beobachtungen Levaditis und Nicolaus über die Beschädigung des Hirngewebes durch physiologische Kochsalzlösung und Bouillon, von Burnet und Conseil über die Verletzungen des Hirngewebes durch Chloral, Opium und Chloroform, von Gins an dem Gewebe der Hornhaut und von Jokota an dem Gewebe des Hodens. Bei unseren Versuchen in dieser Richtung entschieden wir uns für die Hoden der Kaninchen. Die Versuche beziehen sich auf 40 Kaninchen, bei denen ein Hoden durch Durchstechen mit einer sterilen Nadel beschädigt wurde. Entweder vorher, oder gleichzeitig wurde das Kaninchen durch das testikuläre Passagevirus oder durch Glyzerinlymphe, welche durch Aetherdämpfe von den banalen Mikroben gereinigt war, am andern Hoden infiziert.

Bei 40 Proz. dieser Fälle zeigte der beschädigte Hoden eine Orchitis, deren Spezifität durch die Exstirpation und seine weitere

Untersuchung auf das Vorhandensein des Virus hin bestätigt wurde (Versuche an Tieren).

In einem Teile der Fälle war die Entzündung solcher Hoden sehr stark und bedeutend stärker ausgeprägt als an dem Hoden, welcher unmittelbar durch die Vakzine infiziert worden war. Bei der gleichen Durchstechung des Hodens nach der Vakzination einer breiten Hautfläche des Kaninchens wurde bei 10 Fällen keinmal Orchitis erhalten. Diese Versuche sind dadurch interessant, daß sie uns die Möglichkeit geben, auf originellem Wege, ohne unmittelbare Infektion des Hodens, das testikuläre Pockenvirus in reiner Form zu erhalten. Der Einfluß des Zeitraumes bis zu der Durchstechung des Hodens nach der Einführung des Virus in den anderen Hoden auf seine Verletzbarkeit läßt sich in folgender Form darstellen:

Resultat	Zeit der Durchstechung nach der Inokulation				
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
positiv	4 Versuche	2 Versuche	3 Versuche	6 Versuche	3 Versuche
negativ	7 „	7 „	4 „	2 „	2 „

Wir machten eine kleine Anzahl von Versuchen, zu welchen wir als Infektionsmaterial des Hodens das testikuläre Virus nahmen, welches wir als Resultat der beschriebenen Durchstechung des Hodens erhalten hatten. Bei Inokulation des Hodens eines Kaninchens durch ein solches „metastasen“ testikuläres Virus folgte dem Durchstechen des anderen Hodens fast immer dessen spezifische Entzündung.

6 Fälle, von denen 5 ein positives Resultat gaben, hinterließen bei uns den Eindruck, daß das testikuläre „Metastase“-Virus eine erhöhte Empfindsamkeit in Bezug auf das Gewebe des Hodens besitzt. Wir erhalten also eine Art ausgewählten Pockenvirus, dessen charakteristische Eigenschaften die stärker als in anderen Fällen ausgeprägte Hodenaffinität bildet.

Ein Teil der Versuche mit Verletzen des Gewebes wurde an Gehirn gemacht, welches während der ersten 4 Tage nach der Infektion mit einer sterilen Nadel durchstochen wurde. 6—7 Tage nach dem Stich wurde das Kaninchen getötet und das Gewebe des Gehirns auf das Vorhandensein des Virus hin untersucht. Die Resultate dieser Versuche, welche teilweise positiv sind, bieten jedoch kein besonderes Interesse, da, wie wir aus dem oben Erwähnten sehen, beim Gehirn der Kaninchen ohne vorhergehende Verletzung dieselben Resultate erhalten wurden.

Bei unserer Arbeit mit dem Vakzinevirus an den Hoden machten wir Versuche mit 150 Kaninchen. Dabei fanden wir nur bei der Verletzung des Hodens, von welcher eben die Rede war, eine spezifische Orchitis des vorher nicht infizierten Hodens. Doch erhielten wir zum Schlusse unserer Arbeit, als wir nach Noguchi das Vakzinevirus durch den Hoden der Kaninchen passieren ließen, vom 4. Kaninchen an in der Regel entweder die spezifische Orchitis des 2. nicht infizierten Hodens, oder es trat der Tod des Kaninchens bei gleichzeitiger Entzündung des 2. Hodens ein. Die Untersuchung der Organe der eingegangenen Kaninchen ergab das Vorhandensein von Vakzinevirus in denselben. Doch wurde diese Regelmäßigkeit bei der nachfolgenden

Infektion des 2. Hodens oder bei der allgemeinen Generalisation des Vakzins nur bei der Einführung des testikulären Passagevirus in den Hoden beobachtet. Die Vakzination der Haut eines Kaninchens mit einem solchen Virus rief die gewöhnliche Hauterkrankung lokalen Charakters hervor.

Zusammenfassung.

1) Das Vakzinevirus hat während einer bestimmten Periode nach der Hautvakzination einen septischen Charakter. — 2) Das Virus kann in einigen Geweben gefunden werden, was augenscheinlich durch den Charakter dieser Gewebe bedingt wird. — 3) Das sterile Durchstechen des Gewebes eines Kaninchenhodens bei gleichzeitigem oder vorhergehendem Einführen des Vakzinevirus in den anderen Hoden ruft in einer bedeutenden Anzahl der Fälle dessen spezifische Entzündung hervor. — 4) Die Passage des Vakzins durch den Hoden eines Kaninchens kann zu einer starken Vergrößerung der Virulenz des Pockenvirus für die Kaninchen und zur Generalisation des Prozesses führen.

Literatur.

Barikin, W., Kompanejez, Sacharow et Barykin, O., Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 90. 1924. — Gamaleia, Ospa i ospopriwiwaniie. 1924. — Hach, Pratilaktitscheskaia Medizina. 1925. — Calmette et Guérin, Ann. Inst. Pasteur. T. 15. — Gins, Berl. klin. Wochenschr. 1920. — Levaditi et Nicolau, Compt. rend. de l'Acad. d. Scienc. T. 173, 174, 176, 177. — Dies., Compt. Rend. de la Soc. de Biol. T. 86, 87, 89. — Dies., Annal. Inst. Pasteur. T. 37. — Burnet et Conseil, zit. nach v. Wasielewski u. Winkler, Ergebnisse d. Hyg., Bakteriol. etc. Bd. 7. 1925. — Jokota, zit. nach Sobernheim, Ibid.

Der Ueberträger der Trematodenkrankheit unserer Legehühner.

Vorläufige Mitteilung.

[Aus der zoologischen Station für Schädlingsforschung, Rossitten, Kur. Nehrung.]

Von Dr. **Lothar Szidat.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

Unter den zahlreichen Krankheiten unseres Geflügels hat sich in den letzten Jahren die Egelseuche der Legehühner, die durch verschiedene Prosthogonimus-Arten verursacht wird, ganz besonders bemerkbar gemacht. In Bd. 86 des Centralblattes für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten legte erstmals Hieronymi im Jahre 1921 die klinischen Erscheinungen der Krankheit klar, während ich selbst den Erreger als Prosthogonimus intercalandus beschrieb. Seither ist die Krankheit aus verschiedenen Gegenden Norddeutschlands, Hollands und auch Rußlands bekannt geworden, und man hat versucht, den Ueberträger der Krankheit aufzufinden, um

die Grundlagen für eine erfolgreiche Bekämpfung zu schaffen. Bisher sind jedoch diese Versuche, auf die ich hier zunächst nicht näher eingehen kann, fehlgeschlagen, obwohl die allgemeine Annahme dahin ging, daß Wasserinsekten, z. B. Libellen oder auch Schnecken, die mit der Nahrung von den Hühnern aufgenommen wurden, die Jugendstadien des Wurmes in sich beherbergten.

Bereits 1925 hatte ich mich näher mit der Frage nach dem Ueberträger dieser Krankheit beschäftigt. Die dahin zielenden Untersuchungen von Libellen und anderen Wasserinsekten und auch von Mollusken der verseuchten Gebiete verliefen negativ, desgleichen Fütterungsversuche an Hühnern, von denen z. B. ein Exemplar über 400 Libellen verfüttert erhielt, ohne die geringsten Anzeichen einer Erkrankung oder bei späterer Obduktion Trematoden im Eileiter zu zeigen. Die Fütterungsversuche erfolgten in der Zeit vom 13.—19. Mai. Sie mußten dann abgebrochen werden, weil bei aufkommendem nassen und kühlen Wetter der Libellenflug aufhörte.

In diesem Jahre untersuchte ich nun Libellenimagines auf Entoparasiten. Die Flugzeit der Libellen setzte etwas später ein als im vergangenen Jahre, so daß die ersten Libellen erst am 15. Mai untersucht werden konnten. Es wurden zunächst nur wenig Trematodencysten bzw. Larvenformen von Trematoden gefunden, deren Zugehörigkeit zu erwachsenen Arten aus dem Frosch bereits früher sichergestellt worden war. Es handelte sich zumeist um Cysten von Prosotocus confusus. Erst am 21. Mai fand ich in offenbar frisch geschlüpften Libellen neben noch unbekannten Cysten auch eingedrungene Cercarien mit abgeworfenem Schwanzanhang, die sich noch nicht verkapselt hatten und deren Zugehörigkeit mir nicht bekannt war (Fig. 1). Sie zeichneten sich, abgesehen von ihrer verhältnismäßigen Größe, durch eine besonders langgestreckte Yförmige Exkretionsblase (*Ex.*) aus, die prall mit undurchsichtigen Konkrementen angefüllt war. Die Länge dieser Cercarie beträgt ohne den Schwanzanhang, der noch nicht bekannt ist, 0,5—0,7 mm, die Breite 0,15—0,25 mm. Ein kleiner Bohrstachel von 0,02 mm Länge und 0,005 mm Breite, etwa von der Form des letzten Endes eines zugespitzten Bleistiftes, war deutlich zu erkennen. Die etwa gleich großen Saugnäpfe maßen 0,07—0,09 mm im Durchmesser. Die Geschlechtsorgane waren schon verhältnismäßig deutlich zu erkennen; unmittelbar neben dem Bauchsaugnapf das etwas unregelmäßig gebaute Ovarium (*O.*) rechts und links unterhalb der Gabelung der Exkretionsblase die beiden noch winzigen, kugligen Hoden (*H.*). Ein Pharynx war vorhanden, die Darmschenkel jedoch sehr undeutlich. In der Folgezeit konnte ich zweifellos dieselbe Cercarie in verschiedenen Stadien der Einkapselung beobachten, wobei sie sich besonders durch die deutlich sichtbare Exkretionsblase zu erkennen gab (Fig. 2).

Etwa vom 25. Mai ab enthielten die meisten der untersuchten Libellen mehr oder minder zahlreiche Cysten dieses noch unbekannten Trematoden. Die Cysten (Fig. 3) besaßen einen Durchmesser von 0,5 mm und waren schon mit dem bloßen Auge deutlich sichtbar. Sie saßen meist an den Geschlechtsdrüsen und besonders häufig am hinteren Darmende der untersuchten Libellen. Sehr auffällig sind die Hüllen der Cyste, von denen neben der vom Wirt gebildeten, sehr dünnen bindegewebigen Ausscheidung zwei vorhanden sind (*i. Hü.*, *äu. Hü.*), die sich durch die relativ enorme Dicke von je 0,1 mm auszeichnen. Die äußere Hülle (*äu. Hü.*) zeigt zudem einen bei Cystenhüllen noch nicht

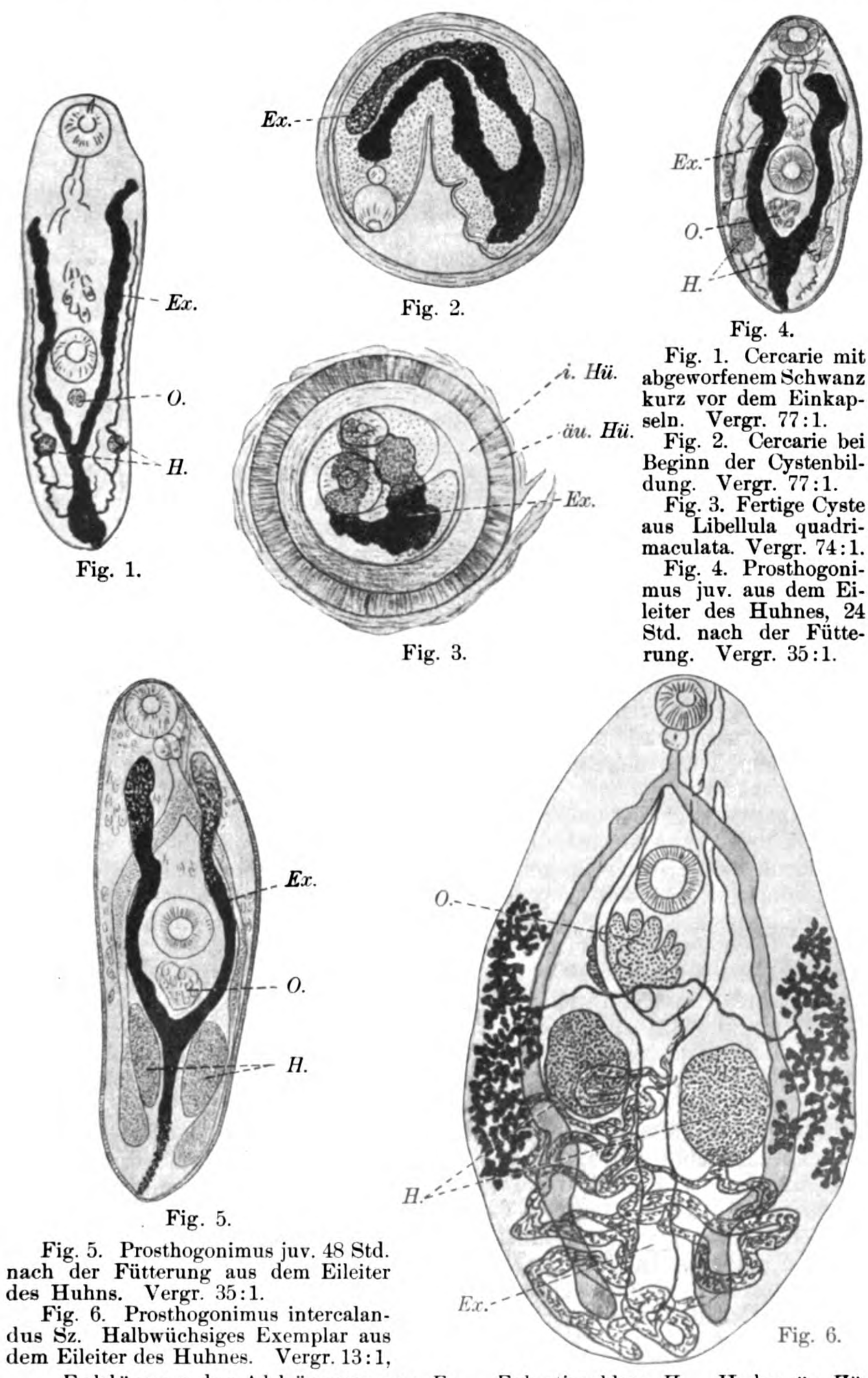


Fig. 1. Cercarie mit abgeworfenem Schwanz kurz vor dem Einkapseln. Vergr. 77:1.
Fig. 2. Cercarie bei Beginn der Cystenbildung. Vergr. 77:1.
Fig. 3. Fertige Cyste aus Libellula quadrimaculata. Vergr. 74:1.
Fig. 4. Prosthogonimus juv. aus dem Eileiter des Huhnes, 24 Std. nach der Fütterung. Vergr. 35:1.

Fig. 5. Prosthogonimus juv. 48 Std. nach der Fütterung aus dem Eileiter des Huhns. Vergr. 35:1.
Fig. 6. Prosthogonimus intercalandus Sz. Halbwüchsiges Exemplar aus dem Eileiter des Huhnes. Vergr. 13:1,

Erklärung der Abkürzungen: *Ex.* = Exkretionsblase, *H.* = Hoden, *äu. Hü.* = äußere Hülle der Cyste, *i. Hü.* = innere Hülle der Cyste, *O.* = Ovarium.

beobachteten, radiär gestreiften Bau, der im Aussehen lebhaft an die Prismenschicht der Molluskenschale erinnert.

Vom 25. Mai ab mehrten sich im Dorfe Rossitten bei den Besitzern die Klagen, daß die Hühner wiederum Windeier, d. h. Eier ohne Kalkschale, zu legen begännen. Trotz großer Mühe gelang es mir zunächst, selbst bei bester Bezahlung, nicht, derartige Hühner in die Hand zu bekommen. Erst am 8. Juni erhielt ich ein von der Krankheit schon ziemlich mitgenommenes Huhn, das bei der Obduktion etwa 20 vollkommen ausgewachsene Prosthogonimus-Exemplare im Eileiter enthielt, der bereits Anzeichen einer starken Entzündung darbot. Jugendliche Individuen konnte ich trotz allen Suchens nicht mehr finden, außer zwei bereits halb ausgewachsenen Exemplaren (Fig. 6).

Zu gleicher Zeit begann ich mit Fütterungsversuchen an gesunden Hühnern. Ich verfütterte an drei aufeinanderfolgenden Tagen etwa 50 Libellen (Libellula quadrimaculata) an einzelne Hühner. Zu Beginn des dritten Tages wurde ein Versuchstier geschlachtet.

Der Eileiter dieses Tieres erwies sich oberhalb des als Uterus bezeichneten Teils vollkommen frei von Trematoden. Im Uterus selbst jedoch zeigten sich beim Ausschütteln dieses Abschnittes in physiologischer Kochsalzlösung große Menge jüngster Wurmstadien (Fig. 4 u. 5), die nun die typische Gestalt der oben beschriebenen Cercarie und des eingekapselten Distomulums aus der Libelle mit der scharf ausgeprägten Yförmigen Exkretionsblase, den fast gleich großen Saugnäpfen und vor allem mit der charakteristischen Lage und Form der Geschlechtsorgane besaßen. Einige ältere Individuen (Fig. 5), die offenbar von den 11 verfütterten Libellen des ersten Versuchstages herrührten, waren weiter vorgeschritten und besaßen bereits in der Ausbildung der Geschlechtsorgane und in der typischen Lage der Geschlechtsöffnungen neben dem Mundsaugnapf alle Gattungsmerkmale der Prosthogonimus-Parasiten.

Nach diesen Befunden ist durch die lückenlose Reihe der Jugendstadien unseres Wurmes die Herkunft und der Ueberträger der Trematodenkrankheit der Legehühner sichergestellt. Wir haben ihn vor allem in den Imagines von Libellula quadrimaculata zu sehen, die in ungeheuren Schwärmen von Mitte Mai bis Anfang Juni in wasserreichen Küstenbezirken Norddeutschlands und Hollands aufzutreten pflegen, obwohl ich die Cysten auch noch in anderen Libellen, z. B. Gomphus-Arten gefunden habe. Die geringe Infektion der Libellen vor dem 25. Mai und somit das Fehlschlagen der vorjährigen Versuche läßt sich zwanglos dadurch erklären, daß die Cercarien der Prosthogonimus-Arten, deren Wirt ich zurzeit mit Sicherheit noch nicht bestimmen kann, gleich den meisten Cercarienarten ihre Schwärmzeit erst Ende Mai bis Ende Juni zu haben pflegen.

Die Landbevölkerung hatte die Libellen, wie bekannt, seit langem als Urheber der Krankheit in Verdacht und hat auch instinktiv die bisher einzig sichere Maßregel gegen die Erkrankung der Hühner ergriffen, indem sie die Hühnerbestände zur Libellenschwärmzeit einzusperren pflegte. Im Verfolg der Untersuchungen wurden noch eine Anzahl interessanter Nebenbefunde zutage gefördert, die in einer ausführlicheren Bearbeitung ihren Platz finden werden.

Weitere Mitteilungen über den Einfluss physiologischer Verdauungssäfte auf Bakterien.

[Aus dem Universitätsinstitut für experimentelle Therapie am allgemeinen Krankenhause Eppendorf, Hamburg (Vorst.: Prof. Dr. Much).]

Von Dr. med. **Karl Mylius** und **Fritz Sartorius.**

Im Anschluß an unsere kurzen Mitteilungen über Einwirkung von physiologischen Verdauungssäften auf Tuberkelbazillen haben wir unsere Versuche auf weitere Spaltpilze ausgedehnt, wobei es uns hauptsächlich auf die Beobachtung keimtötender Kräfte ankam.

Bei der Einwirkung von Magensaft auf Tuberkelbazillen sahen wir lediglich eine wirkliche Körnelung, während Duodenalsaft die Tuberkelbazillen im Aussehen nicht beeinträchtigte.

In der Literatur mitgeteilte Untersuchungen über keimtötende Kräfte in den Körpersekreten widersprechen sich recht erheblich. Dem Speichel kommt nach Hugenschmidt nur eine chemotaktische Wirkung zu; Nasenschleim ist nach Wirth und Lermozer keimtötend, nach Thomson und Herrlett lediglich entwicklungshemmend.

Lond fand, daß Magensaft Keime tötet. Diese keimtötende Kraft hängt nach ihm von der Anwesenheit und Menge der Salzsäure ab, nicht von den weiteren Drüsenabsonderungen. Die Sekrete, die für den Darm in Frage kommen, wurden nicht gesondert untersucht.

Die vielfach als keimtötend betrachtete Galle wirkt nach Talma auf Coli und Diphtherie nur entwicklungshemmend. Neufeld und Giruoni wollen eine Auflösung von Pneumokokken in frischer Galle gesehen haben; andererseits ist Galle wieder bekannt als guter Nährboden für Typhusbazillen. Für reinen Darm- und reinen Pankreassaft lehnen Rolly und Liebermeister jede keimtötende Wirkung ab. Popoff weist darauf hin, daß diese Säfte keine energische Wirkung entfalten können, weil sie erst sehr langsam eine Spaltung von Nukleinen hervorbringen können und daß es sich bei den Spaltpilzen um ein unverändertes und durch seine Lebenskraft geschwächtes Eiweiß handelt. Schütz führt die Beobachtung, daß unmittelbar in den Dünndarm eingeführte Spaltpilze, wie Pyocyaneus in den Fäces nicht mehr nachgewiesen werden konnten, nicht auf eine Wirkung der Verdauungssäfte zurück, sondern auf die Tätigkeit der nicht geschädigten Epithelzellen der Darmschleimhaut.

Ueber die Einwirkung von physiologischem Darmsaft, der alle Teilsäfte, also Darmsaft, Pankreassaft und Galle enthält, was um so wichtiger ist, weil sämtliche Vorfermente hierbei vervollständigt sind, fanden wir keine Angaben.

Die Gewinnung eines solchen Saftes wurde schon in unserer früheren Mitteilung beschrieben. Wir prüften in einer ersten Versuchsreihe zunächst unfiltrierten vom Hunde frisch entnommenen Zwölffingerdarmsaft in seiner Einwirkung auf folgende Spaltpilze: Coli, Paratyphus A und B, Cholera, Staphylokokken, Streptokokken, Pyocyaneus, Heubazillen, Milzbrand.

Es wurden zu 1 ccm Saft je 5 Tropfen einer Spaltpilzaufschwemmung zugesetzt, die durch Abschwemmen einer 18stünd. Schrägagarkultur mit 3 ccm Kochsalzlösung hergestellt war. Die Beobachtungs-

dauer erstreckte sich auf 24 Std. mit viermaliger Abimpfung nach 0, 2, 4 und 24 Std.

In sämtlichen Abimpfungen auf Agarplatten waren nach 24 Std. die eingesäten Spaltpilze mit gutem Wachstum nachweisbar. Dies ergab sich auch bei einer nochmaligen Nachprüfung. Mit dieser Wiederholung des Versuches verbanden wir eine neue Fragestellung, wie sich Bakterien verhalten, wenn nach $^1/_2$stünd. Einwirkung von Magensaft Zwölffingerdarmsaft in gleicher Menge hinzugesetzt wurde. Daneben lief ein Versuch mit reinem Magensaft und selbstverständlich Vergleichsversuche mit unbeimpftem Saft und Wachstumsvergleichen der verwandten Spaltpilze in Kochsalzlösung.

Die Ausführung war dieselbe wie beim vorigen Versuch. Geprüft wurden Pyocyaneus, Typhus, Paratyphus B, Dysenterie Flexner und Y, Staphylokokken. Reiner Magensaft ergibt in den meisten Fällen schon sehr früh, spätestens jedoch nach 4 Std. keimfreie Platten. Dagegen zeigten die Abimpfungen vom Gemisch Magensaft und Darmsaft fast stets eine Verzögerung der Wirkung bis zur nächsten Abimpfung.

Abimpfungen in den Wachstumsvergleichsröhrchen in Kochsalz ergeben nach 24 Std. noch gutes Wachstum. Man darf daraus schließen, daß die Wirkung keinen befördernden Einfluß auf die Abtötung ausübt. Vielleicht spielt die Abbindung der Salzsäure des Magensaftes, auf der ja nach London die keimtötende Wirkung beruhen soll, durch Stoffe und Spaltpilze im zugefügten Darmsaft sowie die Abschwächung der Säure durch den alkalischen Darmsaft die Hauptrolle.

Der Vergleich mit Darmsaft hatte, wie erwähnt, dasselbe verneinende Ergebnis wie beim 1. Versuch.

Auch alle Bemühungen, den Darmsaft durch Zusatz von Stoffen wie Lipoiden, Hundeserum usw. in seiner keimfeindlichen Wirkung zu verstärken, waren vergeblich.

Um nun die störende Anwesenheit anderer Keime auszuschließen und zu sehen, welchen Einfluß eine Filtration der Säfte ausübte, arbeiteten wir in den nächsten Versuchen mit frisch vom Hunde entnommenen Säften, die wir vorher durch ein Berkefeld-Filter geschickt hatten und überzeugten uns durch Plattenausstriche, daß die Säfte danach keimfrei waren.

Bei gleicher Ausführung wie bisher prüften wir Typhus, Paratyphus B, Dysenterie Y, Pyocyaneus, Staphylokokken und Heubazillen.

Gegenüber von Magensaft allein und gegenüber dem Gemisch Magensaft und Darmsaft konnten wir 3 Gruppen von Bakterien feststellen. Am wenigsten widerstandsfähig waren Typhus, Dysenterie Y und Pyocyaneus, indem reiner Magensaft schon bei der ersten Abimpfung kein Wachstum mehr aufkommen ließ und die Mischung Magensaft und Darmsaft nach 2 Std. nur noch einzelne Kolonien wachsen ließ, nach 4 Std. aber ebenfalls keimfreie Platten ergab. Es folgen Paratyphus B und Staphylokokken, die sich etwas widerstandsfähiger verhalten, und schließlich Heubazillen, die überhaupt nicht angegriffen werden. Hierzu eine Tabelle auf S. 567.

Bisher hatten wir die Spaltpilze in einem für ihr Gedeihen wenig günstigen Mittel der Einwirkung der Verdauungssäfte ausgesetzt, d. h. die Säfte eben rein benutzt ohne Speisebreibeimengungen und andere Nährstoffe.

Nun interessierte uns die Frage, ob sich die Ergebnisse wesentlich ändern würden, wenn wir anstatt Kochsalzaufschwemmungen Fleisch-

	Typhus				Dysenterie Y				Pyocyaneus			
	0	2	4	24	0	2	4	24	0	2	4	24
1. Magensaft filtriert	-	—	—	—	—	—	—	—	—	?	—	—
2. Filtrierter Magensaft + filtrierter Duodenalsaft	+	+ schwach	—	—	+	+ schwach	—	—	+	+ schwach	—	—
3. Filtrierter Duodenalsaft	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. Physiologische Kochsalzlösung steril	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

	Paratyphus B.				Staphylokokken				Heusbazillen				Kein Zusatz			
	0	2	4	24	0	2	4	24	0	2	4	24	0	2	4	24
1. Magensaft filtriert	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—
2. Filtrierter Magensaft + filtrierter Duodenalsaft	+	+	+ schwach	±?	+	+	+ schwach	—	+	+	+	+	—	—	—	—
3. Filtrierter Duodenalsaft	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
4. Physiologische Kochsalzlösung, steril	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	—	—	—

brühaufschwemmungen und 18stünd. Fleischbrühkulturen verwandten. Stand die Einwirkung der Verdauungssäfte auf Spaltpilze in Zusammenhang mit der d'Herelleschen Erscheinung, so mußte die Wirkung jetzt stärker sein.

Die Versuchsanordnung blieb dabei einstweilen die alte.

Bei der Einwirkung von Darmsaft allein sahen wir hier bei den Spaltpilzen der Ruhrgruppe eine geringe Einwirkung, die sich im Auftreten sogenannter keimfreier Flecke äußerte und ihren Höhepunkt bei der Abimpfung nach 4 Std. erreichte. Sie war nach 24 Std. bedeutend geringer. Bei Spaltpilzen der Typhus-Coli-Grupppe konnten wir keine nennenswerte Einwirkung feststellen. Völlig unbeeinflußt waren die Sporenbildner.

Keimfreie Platten haben wir bei keinem der untersuchten Spaltpilze bekommen. Und darauf kommt es bei dieser Fragestellung einzig und allein an, wenn man nicht in unfruchtbare Tüfteleien verfallen will. Dem Gemisch Magen- und Darmsaft gegenüber zeigten sich die geprüften Spaltpilze in Fleischbrühe widerstandsfähiger als vorher. Der wachsende Säuregehalt des Magensaftes im Verhältnis zur Alkaleszenz der Fleischbrühe erschwert hier sehr die eindeutige Beurteilung.

Ein neuer Versuch mit filtriertem Darmsaft in anderen Mengenverhältnissen (8 ccm Fleischbrühe + 2 ccm filtrierter Darmsaft + 1 ccm Fleischbrühaufschwemmung — Vergleichsröhrchen: 10 ccm Fleischbrühe + 1 ccm Spaltpilzfleischbrüheaufschwemmung) zeigte auch hier bei den Spaltpilzen der Ruhrgruppe auf den Platten zum Teil keimfreie Flecken in den Ausstrichen. Da wir aber auch zahlreiche keimfreie Flecke in den Vergleichsröhrchen mit reiner Fleischbrühe bei dem gleichen Versuch erhielten, so sind solche Befunde für die Entscheidung, ob keimlösende Einflüsse vorhanden sind, im Grunde genommen unverwertbar.

Die Versuche lassen uns zu der Anschauung kommen, daß physiologischer Darmsaft vom Hunde höchstens eine wachstumshemmende Wirkung haben kann, die sich nur bei den Spaltpilzen der Ruhrgruppe am deutlichsten zeigt.

Unsere Beobachtungen über Magensaft allein bestätigen die Ansicht Londons, daß die Salzsäure das hauptsächlich Wirksame ist. Magen- und Darmsaft gemeinsam weisen keine stärkere, sondern eine wechselvoll abgeschwächte keimtötende Wirkung auf.

Zum Schluß sei noch ein Versuch am lebenden Hunde erwähnt. Wir gossen einem Hunde mit Duodenal- und Coecumfistel Spaltpilzaufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung durch die Duodenalfistel in den Darm und gewannen die eingegossenen Flüssigkeiten nach ihrer Durchwanderung des Dünndarms aus der Cöcalfistel. Schon nach ganz wenigen Minuten hatten die Flüssigkeiten den Weg zurückgelegt, und es gelang aus ihnen die eingesäten Spaltpilze (Pyocyaneus, Coli, Sarcina und Blindschleichentuberkelbazillen sämtlich wieder herauszuzüchten.

Zur Frage der Bereitung von hämolytischem Serum.

[Aus der wissenschaftlichen Abteilung des Sächsischen Serumwerkes, Dresden.]

Von Dr. med. vet. **M. Becker.**

Im Centralbl. f. Bak. Abt. I. Orig. Bd. 98. 1926. S. 425 veröffentlichte Frau Dr. Borowskaja unter obigem Titel interessante Erfahrungen aus dem Gebiete der Ambozeptorherstellung, die für Ausführung der Wassermannschen Reaktion und ähnlicher Methoden von größter Wichtigkeit ist. Ich möchte nicht verfehlen, die in unserem Institut gesammelten Erfahrungen hier ebenfalls bekanntzugeben. Was unsere Immunisierungsergebnisse am Kaninchen anbelangt, so verteilen sich die Erfolge und Mißerfolge bei den einzelnen Verfahren an einem durch mehrere Jahre hindurch beobachteten Material wie folgt:

Im ganzen wurden folgende Immunisierungsmethoden angewandt: 1) Intravenöse Injektion gleichbleibender Dosen Hammelerythrozyten 3—4mal wöchentlich. — 2) Intraperitoneale Injektion gleichbleibender Dosen Hammelerythrozyten 3—4mal wöchentlich. — 3) Intravenöse Injektion gleicher Dosen Hammelerythrozyten in fallenden Intervallen. — 4) Intravenöse Injektion steigender Dosen Hammelerythrozyten in steigenden Intervallen. — 5) Intravenöse Injektion steigender Dosen Hammelerythrozyten in fallenden Intervallen.

Ueber das Ergebnis gibt die folgende Tabelle Aufschluß:

	Todesfälle	unbrauchbarer Titer unter 1/1000	Mit Titer über 1/2000	Höchstdauer der Behandlung
Methode 1	22 Proz.	22 Proz.	56 Proz.	35 Tage
„ 2	60 „	10 „	30 „	60 „
„ 3	24 „	13 „	63 „	20 „
„ 4	4 „	0 „	96 „	17 „
„ 5	9 „	9 „	82 „	15 „

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die intraperitoneale Behandlung die schlechtesten Resultate brachte, während die intravenöse In-

jektion der Erythrozytenaufschwemmung wesentlich besseren Erfolg zeitigte, und zwar den besten mit steigenden Dosen in steigenden oder noch günstiger in fallenden Intervallen. Das entspricht auch im allgemeinen den Erfahrungen, die man bei sonstigen Immunisierungen von Pferden gesammelt hat. Allerdings muß Frau Dr. Borowskaja zugegeben werden, daß auf die Dauer keine Methode mit absoluter Sicherheit Bestes zu leisten imstande ist, sondern daß viel vom unberechenbaren individuellen Verhalten der Kaninchen abhängt. Die höchsten Titer, die wir beobachten konnten, waren solche von 1/20 000 bis 1/30 000, die zu erzielen aber nur in seltenen Ausnahmen glückte. Mit dem von Standenath empfohlenen Tuscheverfahren (Zeitschr. f. Immunitätsf. 1923. S. 19) konnten wir keine günstigeren Ergebnisse erreichen. Zu dem von der Verfasserin mitgeteilten Versuch, ein Pferd zur Ambozeptorgewinnung zwecks Erhaltens größerer Serummengen von gleichem Titer zu benutzen, können wir auch einen Beitrag liefern. Wir haben im Jahre 1924 bereits ein Pferd intravenös mit steigenden Dosen Hammelerythrozyten gespritzt und dabei folgendes Ergebnis erzielt, das allerdings nicht zu weiteren Versuchen ermutigte:

Tag der Behandlung	eingespritzte Menge	Temperatur	Titer	Bemerkungen
1.	10 ccm	37,7	—	—
2.	20 „	37,7	—	—
4.	50 „	37,9	—	—
8.	80 „	37,9	—	Schock u. Hyperidrosis
13.	—	37,8	1/500	—
16.	150 „	37,8	—	Hyperidrosis
20.	—	37,6	1/600	—
23.	300 „	38,4	—	—
29.	—	37,3	1/600	„
30.	300 „	37,4	—	„
35.	—	37,3	1/800	„
36.	400 „	37,8	—	—
42.	—	37,9	1/600	—
45.	—	37,9	1/600	—

Das Pferd zeigte nach jeder Injektion von 80 ccm ab einen außerordentlich starken Schweißausbruch von solcher Heftigkeit, daß das Wasser in richtigen Bächen am ganzen Körper herablief. Nach 1 Std. war die Reaktion wieder vorbei und es bestand nur noch einige Tage Herzschwäche und eine Nierenreizung, ohne daß wesentliche Fiebersteigerungen auftraten. Jedenfalls war der Ambozeptortiter nicht auf 1/1000 zu steigern, so daß wir von weiteren Versuchen abgesehen haben. Natürlich ist es möglich, daß das benutzte Pferd ein ungeeignetes Individuum war, wie ja der besser gelungene Versuch von Borowskaja zeigt. Aber auch dort hat sich der Titer nur einmal auf 1/2000 erhoben. Infolge des von uns erzielten zu niedrigen Titers haben wir das Pferdeserum auch nicht bei der Wassermannschen Reaktion erproben können.

Ueber Cytolyse.

[Aus dem Universitätsinstitut für experimentelle Therapie des allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf (Prof. H. Much).]

Von Drs. med. **H. Franke** u. **A. Ismet**, Stabsarzt der türkischen Armee.

In früheren Arbeiten des Instituts (Kimmelstil, Much und Sartorius, Much, Haim) sind Beobachtungen veröffentlicht über Bakterien- und zellösende Eigenschaften einer Gruppe von Luftbakterien, die den Wurzelbazillen der Flüggeschen Einteilung nahe stehen und wegen ihrer besonderen, von Much gefundenen und untersuchten Eigenschaften, aus der Gruppe Mycoides (Flügge) abgesondert worden sind. Sie erhielten den Namen Mycoides Much. Die von Flügge als Wurzelbazillen zusammengefaßten Luftkeime sind ziemlich große, an den Enden kaum abgerundete, gramfärbbare Stäbchen, die im Innern runde oder ovale Sporen bilden und, bis auf einige Stämme mit ganz geringer Beweglichkeit, unbeweglich sind. Gelatine wird von allen Stämmen verflüssigt. Nach ihrem Wachstum auf Agar und Fleischbrühe kann man sie in 2 große Gruppen teilen: die 1. wächst auf Agar reich verästelt, eisblumen- oder girlandenartig und bildet auf Fleischbrühe kein Oberflächenhäutchen, sondern in der Nährflüssigkeit feine Schleier oder Flocken, die zu Boden sinken. Die 2. Gruppe von Mycoides zeigen auf der Agarplatte mehr oder minder schnelle, flächenhafte Ausbreitung, ähnlich dem Mesentericus und bilden auf Fleischbrühe ein Oberflächenhäutchen, ohne die Brühe zu trüben. Da die ersten bakterienlösenden Stämme solche Häutchenbildner waren, man aber zugleich fand, daß nicht alle Häutchenbildner Lösungsvermögen besaßen, teilte Much die Mycoides-Gruppe ein in:

A. **Flügge-Stämme (nicht Häutchen bildende Stämme).**

B. **Häutchenbildner (Mesentericus-artig)**
- **I. Mycoides-Much-Stämme klärend,**
- **II. X-Stämme nicht klärend.**

Neuerdings sind auch Stämme beobachtet worden, die, ohne auf Fleischbrühe regelrechte Häutchen zu bilden, imstande waren, andere. in der Brühe befindliche Keime zu lösen und die Brühe zu klären. Daher wählt Much nun eine Bezeichnung, die weniger auf die Form und das Wachstum, als auf die biologischen Eigenschaften hinweist: Er nennt diese Stämme Cytolytici Much, da sie auch tierische Zellen (Blutkörperchen) aufzulösen vermögen. Wir werden die bakteriologischen Eigenschaften der von uns untersuchten Stämme weiter unten näher beschreiben. Hier sei nur noch einmal das Urphänomen geschildert, durch das sich die Cytolytici von allen ihnen nahe stehenden Stämme unterscheiden.

Beimpft man ein Fleischbrüheröhrchen mit irgendwelchen, sagen wir Typhusbazillen und stellt es in den Brutschrank bei etwa 37 ^{0}, so haben sich nach 2—3 Tagen die Bazillen derartig vermehrt, daß sie das Röhrchen gleichmäßig trüben. Bringt man nun in ein solches trübes Röhrchen Cytolyticus-Keime, am besten, indem man von einer Agarzüchtung ein kleines Stück Agar ausschneidet und es vorsichtig auf die Oberfläche der Brühe setzt, wo es durch die Oberflächenspannung gehalten wird, so sieht man nach einigen Tagen, wie sich die Cyto-

lyticus-Keime auf der Oberfläche zu einem festen, ziemlich zähen Häutchen auswachsen und wie unter diesem Häutchen beginnend, nach unten allmählich fortschreitend, die trübe Brühe sich aufhellt und klärt. Ist die Klärung bis auf den Boden gelangt, so lassen sich in der Brühe wohl noch Cytolyticus-Sporen und Bazillen nachweisen, aber keine Typhuskeime mehr, weder durch Färbung noch durch Züchtungsversuch. Filtert man eine so gelöste Typhus-Fleischbrühe-Züchtung durch eine Berkefeld-Kerze, so kann man mit diesem keimfreien Filtrat, wenn man es nur in geeigneter Menge zusetzt, eine andere durch Typhusbazillen getrübte Fleischbrühe klären; auch hier verschwinden sämtliche Typhusbazillen. Filtert man nun diese geklärte Typhuszüchtung nochmals, so lassen sich mit dem neuen Filtrat keine weiteren Züchtungen klären oder auch nur abtöten. Diese Fähigkeit, nicht nur das Leben, sondern auch die Form von Lebewesen zu zerstören, besitzt der Cytolyticus auch gegenüber roten Blutkörperchen. Und zwar tritt hier eine wirkliche „Lyse“ ein. Much weist ja schon in seinem Lehrbuch darauf hin, daß der Vorgang, der gemeinhin als Hämolyse bezeichnet wird, keine richtige Lyse ist, sondern nur ein durch physikalische Mittel erzwungener Austritt vom Blutfarbstoff aus dem Zelleib. Die Komplementhämolyse erweist sich unter dem Mikroskop auch nur als Austritt von Blutfarbstoff; die Zelleiber sind nicht zerstört. Und von der Hämolyse durch anisotonische Salzlösungen weiß man dasselbe, ja man hat neuerdings sogar gelernt, daß der dabei ausgetretene Blutfarbstoff wieder in den Zelleib hereinzubringen ist: daß die Salzhämolyse ein umkehrbarer Vorgang ist. Die Hämolyse durch den Cytolyticus Much dagegen ist eine echte Lyse: die Zelleiber werden restlos mit zerstört, so daß sie nachher färberisch nicht mehr zu finden sind. Seine lösende Fähigkeit übt so ein Cytolyticus-Stamm nicht abgestimmt gegen diese oder jene Gruppe von Bakterien, sondern wahllos. Hat er sich einmal gegen eine größere Anzahl von verschiedenen Keimen als Löser erwiesen, so zeigt er diese Fähigkeit auch vielen anderen gegenüber; es gibt auch Stämme, die nur wenige andere lösen können, sie zeigen sich dann bei weiteren Prüfungen auch immer wieder als schlechte Löser; die Uebergänge sind fließend. Und Much weist ausdrücklich darauf hin, daß man nur von „Stämmen“, nicht von Arten sprechen kann, die Lösungsvermögen besitzen. Allerdings haben sich bei neueren Versuchen diejenigen Stämme, die besonders gute Bakterienlöser sind, als schlechte Blutlöser erwiesen, während gerade unsere besten Blutlöser nur wenige Bakterienarten gelöst haben. Diesen Unterschieden soll noch weiter nachgegangen werden. Es sind außerordentlich zahlreiche und verschiedene Keime, die der Much-Lyse unterliegen; die meisten Pathogenen, auch Sporenbildner und Anaërobier (Kimmelstiel), viele harmlose Luft- und Milchkeime. Sogar säurefeste Tuberkelbazillen kann man mit geeigneten Kunstgriffen zur Lösung bringen. Manche Keime dagegen haben eine auffallende Widerstandskraft gegen den Cytolyticus, wie man aus dem unten stehenden Bericht entnehmen wird. Und um das Wichtigste zu sagen: der Cytolyticus löst sich niemals selber auf; auch das Filtrat aus seinen Fleischbrühezüchtungen ist nicht imstande, eine andere Cytolyticus-Züchtung irgendwie im Wachstum zu hemmen. Damit unterscheidet sich die Cytolyticus-Lyse grundsätzlich von der d'Herelleschen Lyse, mit der sie auf den ersten Blick das Gemeinsame hat, daß Keime durch beide Lysen getötet und vollkommen aufgelöst werden. Abgesehen hiervon, ist aber

die Muchsche Lyse in jedem Punkte etwas anderes, als das d'Herellesche Phänomen. Ich füge hier eine Zusammenstellung von Haim an über die grundlegenden Unterschiede, die die Cytolyticus-Lyse von der d'Herelleschen trennen:

1) Das Filtratlysin entstammt einem sichtbaren Keim (Cytolyticus). Es ist an dessen Lebenstätigkeit gebunden. — 2) Das Filtratlysin löst zwar Krankheitserreger auf, kann aber nicht den Much-Bazillus selbst schädigen. Dieser wächst ausgezeichnet auf einer geklärten und gefilterten Flüssigkeit und bildet das gewohnte Häutchen auf der Oberfläche. — 3) Das Much-Lysin ist in seiner Wirksamkeit von der benutzten Menge abhängig. Diese muß sehr beträchtlich sein im Gegensatz zu den außerordentlich geringen wirksamen Mengen des d'Herelleschen Lysins. — 4) Es ist überhaupt nicht oder nur schwach übertragbar, während die Uebertragbarkeit des bakteriophagen Lysins endlos zu nennen ist. — 5) Das Cytolyticus-Lysin löst fremde Bakterienleiber völlig auf, gleichgültig, in welchem Zustande sie sich befinden, ob lebend, alt, geschädigt oder tot. Der „Bakteriophage" kann nur in Vermehrung befindliche Keime auflösen. — 6) Das Much-Lysin ist immer unabgestimmt. — 7) Trotz der weitgehenden Auflösung bleiben die antigenen Fähigkeiten der gelösten Erregerstoffe ungeschädigt, was beim d'Herelleschen Lysin nicht so ausgesprochen ist. Dieser letzte Punkt will noch besonders betont sein, da er die Möglichkeit zu ganz neuen therapeutischen Wegen eröffnet. In den Arbeiten von Kimmelstiel, Much und Sartorius sind Versuche beschrieben, bei denen durch Einspritzung eines keimfreien Berkefeld-Filtrats einer durch Cytolyticus geklärten Züchtung von Y-Bazillen (auch Typhus und Proteus) derselbe Agglutinationstiter gegen die entsprechenden Krankheitskeime erreicht wurden, wie durch die Vorbehandlung mit einer Bazillenaufschwemmung. Auch waren die Hautreaktionen, die man mit einer Staphylokokkenvakzine erzielen kann, mit Einspritzung einer Staphylokokkenklärung durch Cytolytici zu erreichen.

Um welche Kräfte es sich hier handelt, die dem Cytolyticus zu so auffallenden Wirkungen verhelfen, ist noch nicht zu sagen. Am ersten ist an eine Summe von Fermenten zu denken, die in weitgehender Unabgestimmheit und gegen die verschiedenartigsten Körper gerichtet, zusammen das „Lysin" ausmachen. Doch läßt sich auch gegen diese Annahme manches ins Feld führen. Erstens nämlich, daß die Mengenverhältnisse des Lysins von Einfluß auf die Lyse sind, und dann noch ein anderes: die Cytolytici lösen Gelatine auf und bilden auf Serumplatten Dellen. Sie besitzen also ein proteolytisches Ferment. Aber andere Mycoides-Arten, aus der Flügge-Gruppe namentlich, lösen Gelatine weit schneller als die Cytolytici, besitzen also dasselbe Ferment, aber kein Lösungsvermögen. Daraus folgt, daß es bei der Lyse auf das proteolytische Ferment nicht, oder nicht allein ankommt. Doch sind diese Anschauungen noch alle nicht spruchreif. Much als kritischer Kopf wehrt sich dagegen, irgendwelche Lebensäußerungen durch ein Gebäude von Lehrsätzen und „Gesetzen" festzulegen, ehe eine genügend breite Grundlage vorhanden ist, die solch einen Lehrbau stützt. Ein Beitrag zu diesen Grundlagen soll unsere Arbeit sein.

Wir haben das Lösungsvermögen von 8 Cytolyticus-Stämmen gegen 4tägige Fleischbrühezüchtungen einer ganzen Reihe von Keimen geprüft, Krankheitserregern und harmlosen Luftkeimen. Von unseren

8 lösenden Stämmen sind die beiden ersten schon aus früheren Arbeiten bekannt. Die anderen 6 Stämme haben wir aus Eppendorfer Staub gewonnen; wir bezeichnen sie fortlaufend mit den Ziffern III—VIII. Wir beginnen mit der bakteriologischen Beschreibung unserer Cytolyticus-Stämme.

1. Cytolyticus I.

Er wächst auf Agar-Agar als grau-weißer, feinrunzliger, Oberflächenüberzug, der fest mit dem Nährboden verwachsen ist und sich nicht abstreifen läßt. — Auf Blutagar bildet er einen grauen, glatten Oberflächenüberzug, der an den Rändern ganz feine Runzeln trägt, die Ränder erscheinen dunkler, blau-grau. Auch hier läßt er sich von der Unterlage nicht trennen. Nach 3 Tagen keine Hämolyse; nach 7 Tagen starke Hämolyse.

2. Cytolyticus II.

Auf Agar-Agar als weiß-grauer, fest mit der Unterlage verwachsener Ueberzug mit feinen Runzeln, die eisblumen- oder girlandenartige Zeichnungen bilden. Der Ueberzug ist weicher als beim vorigen, die Muster lassen sich verstreichen. — Auf Blutagar als grauer, glatter Oberflächenüberzug, der sich an den Rändern mit bürstenartigen Ausläufern über den Nährboden schiebt. Auch hier ist der Keim vom Nährboden nicht zu trennen. Nach 3 Tagen keine Hämolyse; nach 7 Tagen starke Hämolyse.

3. Cytolyticus III.

Auf Agar-Agar als weißes, dickes, trockenes Häutchen, vom Nährboden abhebbar, gegen die unbewachsenen Agarstellen scharf mit rundlichen Bogen abgesetzt. — Auf Blutagar als grau-weißes, runzliges Häutchen mit fein gebuchteten Rändern, das sich leicht abkratzen läßt. Am 3. Tag deutliche Hämolyse; nach 7 Tagen völlige Hämolyse.

4. Cytolyticus IV.

Auf Agar-Agar gelblich-grauer, feiner Ueberzug, der in der Mitte sich oft zu schwefelgelben, ringwallartig erhabenen Falten zusammenschiebt. Mit der Unterlage nicht verwachsen. — Auf Blutagar zartes, weißes, glatt abkratzbares Häutchen, mit gelblichen, körnchenartigen Erhebungen auf der Oberfläche. Nach 3 Tagen keine Hämolyse; nach 7 Tagen ganz schwache Hämolyse.

5. Cytolyticus V.

Auf Agar-Agar weißer, dichter, milchglasähnlicher Ueberzug, der von der Unterlage schwer, aber doch glatt abkratzbar ist. — Auf Blutagar bräunliches, breit ausgewachsenes, leicht abkratzbares Häutchen, mit ästiger Oberflächenzeichnung, die an manchen Stellen braun, wie mit Brikettasche, bestreut ist. Nach 3 Tagen deutliche Hämolyse; nach 7 Tagen völlige Hämolyse.

6. Cytolyticus VI.

Auf Agar-Agar weißer, dichter Ueberzug mit ästiger Oberflächenzeichnung von der Unterlage abhebbar. — Auf Blutagar grau-schwarzes, breit ausgewachsenes, leicht abkratzbares, fein gerändertes Häutchen mit ästiger Oberflächenzeichnung, an den Rändern mit einer grau-

gelben Girlande umsäumt. Nach 3 Tagen starke Hämolyse; nach 7 Tagen Blutfarbstoff völlig gelöst.

7. Cytolyticus VII.

Auf Agar-Agar als weiße, dicke Haut, mit vielfach gerunzelter Oberfläche und scharfen, bogig begrenzten erhabenen Rändern von der Unterlage schlecht trennbar. — Auf Blutagar braun-schwarzes, gut abkratzbares Häutchen, mit feinrunzliger Oberfläche und zierlich gebuchteten, oft weißlichen Rändern. Nach 3 Tagen starke Hämolyse; nach 7 Tagen Blutfarbstoff völlig gelöst.

8. Cytolyticus VIII.

Auf Agar-Agar weiße, etwas glänzende Haut, die durch oberflächlich, wenig erhabene Falten zierlich, blattaderähnlich gemustert erscheint und glatt von der Unterlage abstreichbar ist. — Auf Blutagar Wachstum wie F 1, nach 3 Tagen fast völlige Auflösung des Blutfarbstoffes. — Auf flüssigen Nährböden zeigen alle 8 Stämme wenig Unterschiede. Auf gewöhnlicher Fleischnährbrühe bilden sie bei Stubenwärme oder bei 37° regelmäßig ein dickes, ziemlich zähes, stark gerunzeltes Oberflächenhäutchen, ohne die Brühe zu trüben. Auch auf Rindergalle wachsen sie sich zu einem guten Häutchen aus, ohne in die Galle einzudringen. Auf gewöhnlichem Menschenblutserum wachsen sie schlecht an. Eigenartig ist ihr Verhalten auf Milch. Auf gewöhnlicher, durch Hitze sterilisierter Milch sieht man nach 1 Tage Gerinnung der Milch, und in den nächstfolgenden Tagen eine langsam von oben nach unten fortschreitende Aufhellung; schließlich bleibt ein weißer, fest zusammenhängender Bodensatz, der für den Cytolyticus nicht weiter angreifbar ist, auch wenn man neue Cytolyticus-Keime zusetzt. Das Oberflächenhäutchen, als welches der Cytolyticus auch hier wächst, ist stark durchsetzt mit dem aus der Milch aufgerahmten Fett und scheint nicht so viel Keime zu enthalten, wie wenn man ihn auf Fleischnährbrühe gezüchtet hätte. Die Gerinnung bewirken alle 8 Stämme gleichmäßig schnell und vollkommen, die nachfolgende Aufklärung besorgen die Stämme I und II am schnellsten (2 bis 3 Tage). Nach etwa 12—14 Tagen nehmen die Klärungen einen braunen Farbton an, der in den mit Stamm III—VIII bepflanzten Röhrchen am stärksten ist, während die mit Stamm I und II nicht stark gefärbt sind.

Mikroskopisch ähneln sich alle Stämme auch sehr. Es sind plumpe, kurze, an den Enden wenig abgerundete Stäbchen, die auf allen Nährböden gezüchtet, vom 2. oder 3. Tage an im Innern runde bis ovale Sporen bilden. Sie nehmen die gebräuchlichen sauren und basischen Farbstoffe an. Ihr Verhalten zur Gram-Färbung ist bemerkenswert: während die meisten Keime im Ausstrich den Gram-Farbstoff festgehalten haben, liegen zwischen ihnen eingestreut vereinzelte andere, die die Gegenfärbung angenommen haben. Auch unter letzteren fanden sich solche mit Sporen.

Wir haben nun 4tägige Fleischbrühezüchtungen folgender 16 pathogenen Keimarten mit allen lösenden Stämmen beimpft (ausgenommen Cyt. V) und bringen das Ergebnis der Lösung in folgender Uebersicht.

Ebenso haben wir das Lösungsvermögen sämtlicher 8 Cytolyticus-Stämme gegen 15 Luftkeime geprüft. Die Luftkeime haben wir aus Eppendorfer Staub gezüchtet, und wollen sie im folgenden kurz beschreiben:

Gelöste Keime	Cytol. I	Cytol. II	Cytol. III	Cytol. VI	Cytol. VII	Cytol. VIII	Cytol. IV
Typhus	+++	+++	+++	++	+++	θ	θ
Para A	+	+++	+++	+	++	+++	+++
„ B	θ	+	+++	+	++	++	θ
Shiga	++	++	++	+	++	++	θ
Y	+	+++	+++	+	++	θ	+
Coli	+++	+++	+++	++	+++	θ	θ
Diphtherie	+++	++	+++	+	++	+++	+
Pyocaneus	θ	++	+++	+	+++	+++	θ
Staph. aureus	+	θ	+++	θ	++	+++	++
„ albus	+	+	+++	θ	+++	+++	+
„ citreus	+++	+++	+++	θ	+++	+++	+++
Strept. virid.	+	+++	+++	±	+++	+++	+++
„ haemol.	++	+++	+++	±	++	+++	+++
„ mucosus	+++	+++	+++	±	++	+++	+++
Weil-Felix	++	+++	+++	+	+	+	++
Pneumokokken	+++	+++	+++	+++	+++	θ	θ

Zeichenerklärung: θ = keine Klärung. ± = Aufhellung, aber keine Klärung. ++ = Klärung, ganz geringer Bodensatz. +++ = Klärung ohne Bodensatz.

I 2. Auf Agar, fette, gut abgegrenzte, gelbliche, rundliche Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung Mikroskop. gramnegative, unbewegliche dicke Kokken in Tetraden und zu Haufen.

I 3. Auf Agar, weiß glänzende, dicke Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. gramnegative, unbewegliche Kokken in Haufen.

I 5. Wachstum wie bei I 3. Mikroskopische Haufenkokken.

R 4. Auf Agar, weiße undurchsichtige, fette Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. grampositive Haufenkokken.

B 1. Auf Agar, weißlich durchscheinende Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. gramnegative Kokken.

B 5. Auf Agar, lehmfarbene, homogene, glänzende Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. grampositive Kokken.

II 2. Auf Agar, weißgelbe, breite Kolonien, randwärts durchsichtiger als in der Mitte. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. gramnegative kleine, plumpe Stäbchen in Längsketten.

R 2. Auf Agar, bräunliche, schleimige Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. gramnegative plumpe Stäbchen.

R 3. Auf Agar, trockene, runzlige, bräunliche Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. grampositive Stäbchen, die teilweise ganz plump, fast oval sind.

B 3. Auf Agar, gelbe, fettglänzende, dicke Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. grampositive, ganz plumpe, ovale Gebilde.

I 6. Auf Agar, gelbliche, rundliche, gut begrenzte Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. kleine, gramnegative, sporentragende Stäbchen.

III 1. Auf Agar, milchweiße, dünne Kolonien, nicht sehr randscharf. In Fleischbrühe als Trübung, bei längerem Wachstum bildet sich ein fädiger Bodensatz, die Brühe bleibt aber getrübt. Mikroskop. gramnegative, kurze, plumpe Stäbchen mit Sporen.

III 2. Auf Agar, gelblich, weiße, dünne Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. lange, gramnegative, schlanke Stäbchen, parallel oder hintereinander geordnet.

III 4. Auf Agar, weiße, weiche, undurchsichtige Kolonien. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. gramnegative Stäbchen mit endständiger, stark gefärbter Verdickung (Trommelschlägelform).

III 5. Auf Agar, als dünner glänzender Hauch, mit deutlich abgesetzten Rändern. In Fleischbrühe als Trübung. Mikroskop. gramnegative, ungleich lange Stäbchen, mit mittelständiger Spore.

Auch hier nahmen wir 4tägige trübe Fleischbrühezüchtungen der Luftkeime und beimpften sie mit allen 8 Cytolyticus-Stämmen. Das Ergebnis zeigt nachfolgende Zusammenstellung.

Gelöste Keime	Cytol. I	Cytol. II	Cytol. III	Cytol. IV	Cytol. V	Cytol. VI	Cytol. VII	Cytol. VIII
I 2.	++	++	+++	++	++	++	+	++
I 3.	+++	+++	+++	++	++	+++	++	θ
I 5.	++	+++	+++	++	++	+++	+++	θ
R 4.	++	++	++	++	+++	+	++	θ
B 1.	++	+++	++	θ	++	+++	+	++
B 5.	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++
II 2.	+++	++	++	+++	+++	+++	θ	θ
R 2.	θ	θ	θ	θ	++	θ	θ	θ
R 3.	++	+++	++	+++	++	+++	++	++
B 3.	θ	+	θ	θ	θ	+	+	θ
I 6.	θ	++	++	θ	++	+++	θ	θ
III 1.	θ	θ	++	.	.	++	θ	θ
III 2.	++	θ	+++	.	.	θ	++	θ
III 4.	θ	θ	+++	θ	θ	θ	++	+++
III 5.	θ	θ	++	θ	θ	++	++	θ

Nachdruck verboten.

Die weisse Maus als Versuchstier.

[Aus dem Hyg. Institut der Universität München (Geh. Med.-Rat Prof. Dr. K. Kißkalt).]

Von Priv.-Doz. Dr. **M. Knorr.**

Mit 2 Kurven im Text.

I. Fieber-Hungerwirkungen.

Der rasche Aufschwung der Bakteriologie brachte es mit sich, daß ihr Gebäude schnell emporwuchs, ohne daß man stets daran dachte mit welchem Werkzeug es errichtet wurde. Damit nahm man bewußt und unbewußt manche Fehlerquellen in Kauf; am häufigsten waren sie da zu erwarten, wo das Werkzeug eigentlich als nichts anderes angesehen wurde als ein lebendes Reagensglas — beim Tierversuch.

Man findet so über normale und pathologische Physiologie der weißen Maus, dem vielfach nicht nur von Bakteriologen benutzten Versuchstier, nur ganz sparsame Angaben[1]). Es liegt nicht im Bereiche

1) Obwohl wir uns auch an viele zuständige Stellen wandten, haben wir außer der hier mitgeteilten Literatur nichts Einschlägiges ausfindig machen können. Möglich ist, daß gelegentlich sich da und dort eine Beobachtung in ähnlicher Richtung findet

der hygienischen Forschung dieses Gebiet zu bearbeiten. Da wir uns aber das Ziel gesteckt hatten, die klinischen Erscheinungen der infizierten weißen Maus auszuwerten, mußten wir wenigstens Teilgebiete der Physiologie streifen.

Wie beim Menschen wurde auch bei der weißen Maus die Körperwärme als bequemer Indikator bei den verschiedensten Versuchen herangezogen; so ist bei Arbeiten über Proteinkörpertherapie von jeher die Temperaturmessung eine Grundlage gewesen; wir wollten sie zur Untersuchung des Ablaufs von akuten und chronischen Infektionen benutzen.

Die Messung von normalen Mäusen wurde zunächst mit dem in Heims Lehrbuch, 4. Aufl., aufgeführten Mäusethermometer, (Firma Richter & Wiese, Berlin) vorgenommen. Später wurde ein sogenanntes Schabenthermometer (H. Necheles, Pflügers Arch. Bd. 204) benutzt, das nach unseren Angaben geändert war und 2,5 cm tief in den Darm ohne Schaden für das Tier eingeführt werden konnte. Im allgemeinen wird eine Temperatur im Darm von 36,5—37,5 ^{0} C als normal bezeichnet.

In Untersuchungen mit Herrn Nebil Bey wurden in zahlreichen einfachen und Dauermessungen diese Angaben nachgeprüft. Bei Benützung des bisher üblichen Mäusethermometers, das stets etwa 15 mm tief in den Darm eingeführt wurde, ergaben sich bei 11—20 g schweren Mäusen $^1/_2$ Min. nach Einführung folgende Zahlen:

Morgentemperatur	33,2—37,8
Mittagtemperatur	32,4—37,6
Abendtemperatur	33,0—37,7

Der Durchschnitt aus je 4 Messungen bei 10 Mäusen war:

Morgentemperatur	36,3
Mittagtemperatur	36,1
Abendtemperatur	36,2

Die Tiere wurden in Mäusegläsern bei bester Fütterung (Mais und Weizen) mit Wasser einzeln gehalten. Die Außentemperatur schwankte zwischen 19 und 21 ^{0}.

Bei diesen Messungen konnte schon die geringste Verschiebung des Thermometers nach innen oder nach außen die Temperatur um einige Grade nach oben oder nach unten verschieben. Ich kam so zur Vorstellung von schalenartig angeordneten Temperaturzonen. Die Ermittelung des Temperaturkernes schien die gleichmäßigsten Werte zu ermöglichen.

Zu diesen Versuchen wurde das oben erwähnte Schabenthermometer benützt. Die Konstruktion des Thermometers ist so, daß das sehr kleine Quecksilbergefäß stets gleich tief eingeführt werden kann; es kommt dann in der Nähe des unteren Poles der linken Niere; 30 Sek. nach Einführung wird abgelesen.

Je 4 bzw. 3 Messungen bei 10 Mäusen im Gewicht von 13—18 g ergaben:

Morgentemperatur	36,2—38,5
Abendtemperatur	35,2—38,0

Der Durchschnitt aus je 4 bzw. 3 Messungen bei 10 Mäusen:

Morgens	37,0
Abends	36,8

Nehmen wir aus unseren Protokollen je 100 Messungen verschiedener Mäuse [Gew. 10—23 g[1])] morgens und abends, so zeigt sich:

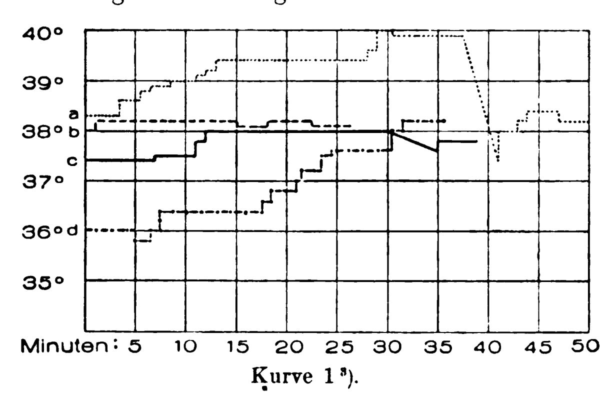
1) Junge Mäuse im Gewicht von 4—8,5 g hatten die gleichen Temperaturen.

Morgentemperatur 37,7° (34—35° = 2 Proz.; 35—36° = 3 Proz.; 36—37° = 19 Proz. 37—38° = 58 Proz.; 38—39° = 18 Proz.)[1]).
Abendtemperatur 37,6° (35—36° = 3 Proz.; 36—37° = 21 Proz.; 37—38° = 55 Proz.; 38—39° = 21 Proz.)[1]).

Das Schwanken der Temperatur auch im Temperaturkern wurde in sogenannten Dauermeßversuchen festgestellt:

Die Maus kommt auf den Mäusehalter nach Kitasato, dessen Metalltisch mit einer 1 cm starken Korkplatte bedeckt ist, mit Rücken nach unten. Die Maus kann so nur noch die Beine bewegen. Das Schabenthermometer wird unter drehenden Bewegungen eingeführt und dann so befestigt, daß es sich nicht mehr verschieben kann. Das Ergebnis von 4 Messungen (*a, b, c, d*) ist aus der Fig. 1 zu entnehmen.

Es steht somit fest, daß Temperaturen von 34—40° im Körperinneren normal vorkommen können. Die Steigerung der Temperatur nach längerer Messung ist wahrscheinlich auf Anregung der Peristaltik, dadurch hervorgerufene lebhaftere Verdauung und Füllung der Darmgefäße zurückzuführen[2]). Abwehr und sonstige Bewegungen spielen bei den auf Tafel I mitgeteilten Versuchen kaum eine Rolle.



Kurve 1[3]).

Die Messung der Temperatur im Körperinnern ist die praktisch am besten brauchbare. Wir haben sie bei allen unseren weiteren Versuchen herangezogen.

Von dem Ergebnis der Messungen akut infizierter Tiere (Pneumokokken, Str. mucosus, Streptokokken, Schweinerotlauf, Friedländer, Enteritis, Hühnercholera, Recurrens, Trypanosomen), sei nur so viel mitgeteilt, daß wir bis jetzt Temperaturen über 41° nicht zu verzeichnen hatten; wir können also nicht von deutlich ausgeprägtem Fieber sprechen, es können jedoch auch dauernde Temperaturen über 39° (z. B. bei Str. mucosus, Hühnercholera) nicht als normal angesehen werden. Bei diesen Messungen fanden sich aber in der Mehrzahl der Fälle Temperaturen unter 35, ja unter 30°, sie konnten schon innerhalb der ersten 24 Std. nach der Infektion, manchmal auch erst am 3. Tage festgestellt werden. Die Schwere der Erkrankung stand in keinem unmittelbaren Zusammenhang mit der Temperatur.

Man kann nur so viel sagen, daß ein allmähliches Fallen der

1) Es wurden nur Mäuse gemessen, die sich schon im Glas „eingewöhnt" hatten. Bringt man Mäuse vom Käfig ins Glas, dann zeigt sich zunächst meist infolge der Unruhe eine etwas höhere Temperatur.

2) Beim aufgespannnten Tier verengern sich natürlich gleichzeitig die Gefäße der Peripherie, so daß die Abkühlung des Blutes verringert wird.

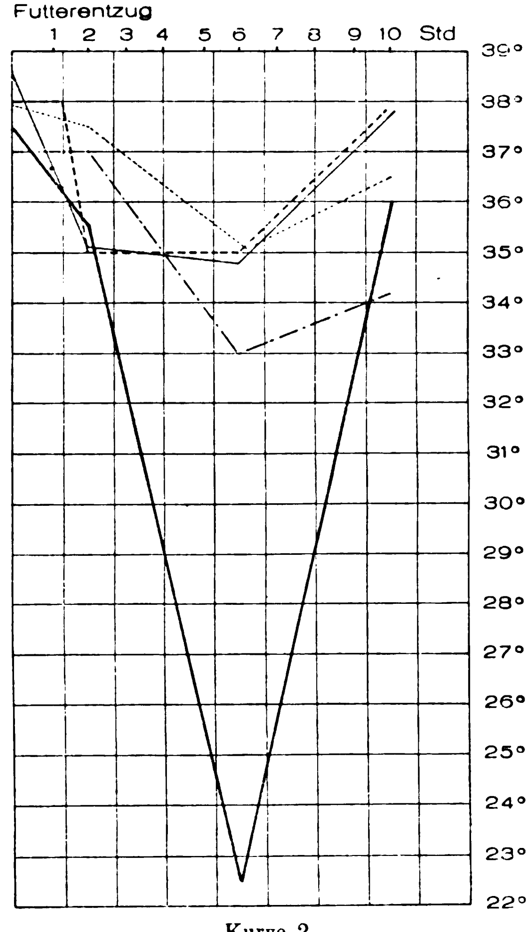
3) Bei a wird nach 37,5 Min. für 4, bei c nach 30 Min. für 5 Min. das Thermometer entfernt.

Temperatur sicher eine schlechte Prognose zu stellen erlaubt, daß aber normale Temperaturen trotz objektiver Krankheitszeichen zu keiner guten Prognose berechtigen.

Die Beobachtung der infizierten Tiere mit normalen und fallenden Temperaturen ergab:

Tiere mit fehlender Nahrungsaufnahme zeigen eine fallende Kurve,

Tiere mit geringer Nahrungsaufnahme können trotz schweren Krankheitszeichen normale Temperaturen haben.



Kurve 2.

Damit war die Abhängigkeit der Temperatur von der Nahrungsaufnahme beim infizierten Tier sichergestellt. Es erhob sich nun noch die Frage, wie normale Mäuse bei Futterentzug reagieren. Diese Versuche wurden eingehend bearbeitet: die Fig. 2 zeigt Möglichkeiten des Temperaturabfalls und Wiederanstieges bei Futterentzug innerhalb der ersten 10 Std. (Mäuse VI—X).

Aus der Figur geht hervor, daß schon nach kürzester Zeit bei fehlender Nahrungsaufnahme beträchtliche Temperaturabnahmen eintreten können; ebenso kann ohne unser Zutun dem Abfall ein Aufstieg folgen. Ich lege diesen Eigentümlichkeiten der Temperaturkurve nach Nahrungsentzug innerhalb der ersten 12 Std. deshalb besonderen Wert bei, weil nunmehr die Richtigkeit der Messungen nach Einspritzungen von Bakterien, Proteinkörpern, Giften usw., die meist innerhalb dieser Zeit geschehen, in Frage gestellt ist. Bei den üblichen Dosen ($^1/_{10}$—$^1/_{50}$ des Körpergewichtes) ist es sicher leicht möglich, daß einem Tier durch diesen Eingriff die Lust am Fressen vergeht. Grundsätzlich muß man deshalb an alle diese Messungen mit einem post hoc propter hoc? herantreten.

Die poikilotherme Maus.

Es gelang durch dauernden Nahrungsentzug die Temperatur der Maus häufig innerhalb 24 Std. unter 30°, oft bis zur Zimmertemperatur

zu senken[1]). Läßt man eine Maus ohne Futter, so lebt sie durchschnittlich noch 3—4 Tage. Bei einer Körpertemperatur von 16—25° kann sie durchschnittlich noch 20—50 Std. leben.

Füttert man die Tiere von derartig niederen Temperaturen, so wird bei einigermaßen guter Futteraufnahme die normale Temperatur in weniger als 1 Std. wiederhergestellt.

Im Brutschrank von 36,8° trat nicht vor 1 Std., jedoch meist vor zwei Std. diese Wirkung ein. Nähere Angaben über alle diese Versuche (Abkühlungszeit lebender und toter Mäuse, Beibehaltung der wiedererreichten Wärme, Topographie der Wärme, usw.) werden in einer Fachzeitschrift, bzw. in der Diss. von Herrn Nebil Bey, veröffentlicht. Nur zwei Beispiele möchte ich für die Reaktionsfähigkeit solcher Hungertiere anführen:

1) Eine Maus von 15 g, Temp. 36°, bisher mit reichlich Futter versehen, wird auf Hunger gesetzt; nach 17 Std. Temp. 23° (Zimmertemp. 19°). Sie bekommt nun Futter; es wird spärlich und mit großer Mühe aufgenommen. 6 Std. später 38,4°; neuer Futterentzug, nach 17 Std. ist die Temp. 37,2, nach 25 Std. 33,2, nach 40 Std. 20,0°.

Nun kommt die Maus in den Brutschrank bei 36,8° und erreicht nach 2 Std. diese Temp. Bisheriger Verlust an Körpergewicht 3 g. 3 Tage Futter, dann nochmals Futterentzug; nach 24 Std. Hunger ist wieder eine Temp. von 25,2° eingetreten; nach Fütterung: innerhalb 40 Min. Temp. 37,2°.

2) Eine Maus von 20 g mit Temp. 38,2° hat nach 10½stünd. Hunger 21° (Zimmertemp. 18,5°.) Sie kommt in den Brutschrank und erreicht nach 1 Std. 37,2°. Sie wird nun wieder ohne Futter bei einer Zimmertemp. von 20,7 gehalten, nach 8 Std. erst wieder 31°, nach 20 Std. 21°.

Die Hungermäuse zeigen fast durchweg bei Temperaturen, die sich einige Zeit unter 25° halten, bei Berührung, besonders beim Messen, auch ohne mechanischen Reiz, vor allem gegen ihr Ende zu, tonische Starre des gesamten Körpers.

Die Vorderpfoten sind über der Brust gekreuzt, die Hinterpfoten mit der Sohle nach oben unter Spreizung der Zehen ausgestreckt, der Schwanz ist völlig starr, gleichzeitig geht Harn ab. Der Starrezustand ist so beträchtlich, daß man eine solche Maus am äußersten Schwanzende mit einem Bleistift berühren und auf dem Tisch drehen kann. Der Krampf löst sich nach einigen Sekunden bis Minuten und ist erst nach längerer Zeit wieder auslösbar. Im übrigen zeigen die Hungermäuse taumelnden Gang, eingesunkene Flanken und kyphotische Stellung. Stirbt ein Tier während des Krampfzustandes, so bleibt er bisweilen bestehen. Das Tier zeigt dann all das, was Elkeles (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 98. S. 351) als das Bild der septikämischen Enteritisinfektion beschreibt und wie es aus der seiner Arbeit beigegebenen Photographie ersichtlich ist. Aber die Enteritismäuse fressen, wie wir festgestellt haben, häufig besonders gegen das Ende zu auch nichts mehr (vgl. die eine Temperaturbeobachtung von 32° von Elkeles bei einer mit Paratyphus B infizierten Maus!).

Die Wirkung von Reizkörpern auf die Hungermaus.

Die Hungermaus scheint ein gutes Versuchstier für Studien über pyrogene Stoffe zu sein. Aus bestimmten Gründen habe ich den Einfluß von Kaseosan auf die Temperatur der Hungermaus beobachtet.

Maus	Gewicht	norm. Temp.	Hungertemp.			Temperatur nach Minuten:					
			22 Std.	46 Std.		10	20	30	60	75	100
H 1	15	38,5	35,5	18	H 1 erh. bei einer Z. T.	21,5	25	29	33,5	35,5	36,5
H 2	14	38,2	35,5	18,5	v. 16,5° 1,0 und H 2	22,2	27	32	35	35,5	36,5
H 3	14	38,2	34,5	36,5	0,5 ccm Kaseosan						

1) Jedoch in Sommermonaten kamen noch nach 3 Tagen Hunger Temperaturen über 30° vor.

24 Std. nach der ersten Einspritzung zeigt H 1 wieder 17,6 °, H 2 = 17,2 ° und nun auch die noch nicht behandelte H 3-Maus = 16,5 °. H 1 und H 2 erhalten neuerdings je 0,1 ccm, H 3 = 0,5 ccm Kaseosan.

nach	10	20	30	45	60	90	120	135	180	480	Minuten
H 1	19	20	21	22,5	24,5	30,5	32,5	33,5	34,8	24,4	**H 1 erhielt nun ohne Wirkung**
H 2	19	20	21,2	22,2	23,5	27,2	29,5	32,5	34,0	18,5	0,5 ccm **physiol. Kochsalzlös**
H 3	16,5	17	17,5	17,5	18,0	18,0	18,0				**u. H 2 = 0,5 ccm Kaseosan**

Es ist hier nur möglich, Tatsachen zu bringen, über die Theorie sei nur so viel angeführt, daß diese beträchtliche Temperatursteigerung der Hungermaus durch eine pyrogene Wirkung hervorgerufen sein muß. Entsprechend konnten wir nämlich mit minimalen Mengen einer abgetöteten Typhusbakterienaufschwemmung ähnliche Ergebnisse, wie sie in der Tabelle niedergelegt sind, verzeichnen. Die in dem Kaseosan bzw. Typhusbazillen zugeführten Kalorien kamen hier sicher nicht in Frage. Hervorgehoben muß werden, daß die völlig regungslos dasitzenden Mäuse, die sich kaum auf den Beinen halten konnten, nach der Kaseosan- und Ty-B-Einspritzung zusehends munterer wurden, zum Wassergefäß emporhüpften und nach Entfernung aus dem Mäuseglas schnell davonliefen. Es ist dies das eindrucksvollste Bild der Proteinkörper-„Therapie“, das ich jemals gesehen habe.

Weiterhin muß hervorgehoben werden, daß bei Hungermäusen, die auf subkutane Einspritzung von Proteinkörpern nicht mehr reagieren, die geringste Futteraufnahme noch Hilfe bringen kann.

Versuche über die Wirkung von Tetanustoxin auf die Hungermaus.

Bekanntlich sind Frösche in der Kälte ganz unempfindlich gegen Tetanus. Bei Temperaturen über 20 ° findet man dagegen eine besonders große Empfindlichkeit. Diese Beobachtung gilt in geringerem Maße von anderen Amphibien und auch Reptilien. Ferner sollen Murmeltiere im Winterschlaf nicht an Tetanus erkranken, dagegen nach dem Erwachen (Billinger). Auch Fledermäuse zeigten in der Kälte nach Meyer und Halsey eine erhebliche Widerstandsfähigkeit (zit. nach Oppenheimer, Toxine und Antitoxine, Jena 1904, Verlag Fischer).

Die Prüfung der Hungermaus in der gleichen Richtung ist somit nichts grundsätzlich Neues; nur wird hier ein hochempfindlicher Warmblüter in gewissen Grenzen zum Kaltblüter gemacht.

Die Wirkung des von mir benutzten Tetanustoxins auf normale, gut gefütterte Mäuse im Gewicht nicht unter 15 g ergibt sich aus folgender Tabelle:

Gabe in ccm	Tetanus spätestens nach	Tod spätestens vor
0,4	10 Std.	14 Std.
0,3	12 „	16 „
0,2	12 „	24 „
0,1	12 „	30 „
0,05	12 „	30 „

Die Temperatur normaler Tetanusmäuse fiel langsam nach Eintritt der ersten Krämpfe bis auf 24 ° herunter. Postmortale Temperatursteigerung wurde nicht beobachtet. Für den Temperaturabfall ist die abnehmende Freßlust bis zur Verweigerung der Nahrung bzw. Unmöglichkeit der Nahrungsaufnahme verantwortlich zu machen.

I. Mäuse nach 24stünd. Hungern mit Temperatur von 16,5—24 ° vor, und 22,4—30,5 ° nach der Einverleibung des Tetanustoxins zeigten bis zu ihrem Ende, also durchschnittlich über 24 Std. nach Einspritzung, trotz Gabe von 0,2—0,4 ccm keinerlei tetanische Erscheinungen, wie wir sie sonst zu sehen gewohnt sind.

II. Normale gut gefütterte Mäuse werden bei einer Zimmertemperatur von 16,5—18,2° auf Hunger gesetzt und sofort mit 0,3 ccm Tetanustoxin subkutan gespritzt.

Maus	Normal		Temperatur nach Hungerstunden							Bemerkungen
	Gew.	Temp.	4	7 3/4	22	27 1/2	30 1/2	45 1/2	49	
H 51	21 g	37,6	34,5	35,0	18,5	20,0	21,5	18,4 [1])	24,6 [2])	Fett = Beginn d. Tet. 1) H 51 nimmt spärlich Futter auf; 2) die Tiere gehen erst nach 78 Stunden unt. Tetanuserscheinungen ein
H 52	17,5 „	37,2	33,5	33,0	28,6	**21,0**	**19,5**	**15,8**	**17,2** [2])	
H 53	14,0 „	38,0	34,5	33,5	**33,2**	**21,5**	**21,0**	✝		

Ein anderer Versuch wurde in gleicher Weise angesetzt, die Tiere kamen aber nach 21 Std. Hunger für 2 Std. in das Mäusedigestorium bei 21°.

Maus	Normal		Tox.-Gabe	Temperatur nach Hungerstunden						Bemerkungen
	Gew.	Temp.		3	5 1/2	21	23	29	43	
H 45	15 g	37,5	0,4	32,5	32	21	26	20,5	**17,0**	+ nach 50 Std.
H 46	17 „	39,0	0,4	35,0	35,5	**33,5**	**34,5**	**24,5**	**17,5**	✝ „ 46 „
H 47	22 „	38,0	0,2	36,0	36,0	22,5	**24,5**	**19,2**	**17,2**	+ „ 45 „
H 48	15 „	37,6	0,2	36,5	36,5	20,0	**35,0**	**34,5**	✝	—
H 49	20 „	38,2	0,05	36,5	37,0	20,5	33,5	29,5	**17,5**	✝ „ 51 „
H 50	16 „	37,4	0,05	36,5	35,5	21,8	33,5	27,5	**19,5**	✝ „ 69 „

Die wesentlichen Ergebnisse dieser Versuche sind:

a) Nimmt eine mit Tetanustoxin subkutan gespritzte Maus kein Futter mehr auf, so kann sich die Inkubationszeit um das Doppelte und darüber verlängern, ebenso kann der Tod erst nach einer 3—5mal längeren Zeit wie sonst von der Einspritzung ab gerechnet eintreten.

b) Nimmt eine mit Tetanustoxin subkutan gespritzte Maus kein Futter mehr auf, so können selbst bei Einverleibung von Dosen, die innerhalb 14 Std. das Tier töten würden, überhaupt die gewöhnlichen Zeichen fehlen.

c) Wird einer mit Tetanustoxin gespritzten Maus Futter entzogen, dadurch Temperaturabfall erzeugt, dann hängt es wahrscheinlich von der Reaktionsfähigkeit der Tieres für Wärmezufuhr ab, ob Tetanus eintreten kann (z. B. H 45, H 47).

Es kann also vorkommen, daß beim Arbeiten mit Tetanustoxin Schwankungen beobachtet werden, die durch die aufgeführten Versuche erklärt werden können. Es ist somit sehr wahrscheinlich, daß die schon von Behring beobachteten individuellen Schwankungen in der Giftempfindlichkeit bei Mäusen von den geschilderten Umständen abhängen. Entsprechend muß bei sogenannten schwachtoxischen oder atoxischen Stämmen an die beschriebenen Möglichkeiten gedacht werden.

III. Mäusen wird nach einer Hungerzeit von 30 Std. 0,4 ccm Tetanustoxin subkutan eingespritzt. Die Tiere werden dann zwischen den mit = bezeichneten Zeichen mit Futter versehen. (S. Tab. S. 583.)

Normale gefütterte Mäuse zeigen bei der Gabe von 0,4 ccm Tetanustoxin nach 10 Std. die ersten Krankheitszeichen und gehen nach 14 Std. ein. Die Hungermäuse hatten in vorstehendem Versuch nach 21 Std. keinen Tetanus, und obwohl die Temperatur durch die Futteraufnahme teilweise auf Normaltemperatur erhöht wurde, traten die tetanischen Er-

Maus	Norm Gew.	Temp. n. 30-Std. Hunger	Temperatur nach Toxineinspritzung 14½	18½	21	26	38	44	Bemerkungen
H 63	18 g	27,5	16.5	20,4	19,2	= 26,8	+	—	1. Reagiert auf 0,5 ccm Kaseosan nicht mehr
H 65	14 „	18,5	20,0	20,0	19,5	= 32,0	**33,4**	+	
H 66	19 „	35,8	20,5[1])	21,2	20,5	= 37,5	**19,2**	+	
H 69	15 „	34,5	19,0	28,5	28,5	= 37,5	**19,0**	**17,0**	
H 70	21 „	31,5	20,0	= 36,8	36,8	**37,0**	+	—	

scheinungen nicht sofort nach Futteraufnahme, sondern beträchtlich später auf. Als Ursache kommt in Frage:

a) Mangelhafte Giftbindung bei niederer Temperatur. Die bisherigen Ergebnisse der Literatur sprechen gegen diese Annahme.

Toxin-Antitoxinversuche werden hier weitere Aufklärung bringen müssen.

b) Das Tetanusgift wird im Körper der Hungermaus abgeschwächt, ausgeschieden oder langsamer geleitet. Diese und weitere Möglichkeiten erfordern noch zahlreiche Versuchsreihen, im wesentlichen sind die Grundlagen hierfür jedoch gegeben.

Weitere Beobachtungen an Hungermäusen.

In Versuchen mit Herrn Dr. K. Meyer vom Patholog. Institut der Universität (Geh. Rat Prof. Dr. Borst), der auch die pathologischen Erscheinungen dieser Hungermäuse untersucht, habe ich Untersuchungen über das Blutbild von normalen und Hungermäusen angestellt. **Während sich nach der quantitativen Seite bis jetzt regelmäßige Unterschiede nicht ergeben haben, ist die qualitative Zusammensetzung des Blutes der normalen und der Hungermaus nahezu umgekehrt.** Eine normale Maus hat durchschnittlich 70—80 Proz. Lymphozyten und 20—30 Proz. Leukozyten. Schon nach 24 Std. Hunger können sich diese Zahlen umkehren[1]). Diese Zusammensetzung erwies sich bis jetzt längere Zeit nach Verbringung der Hungermäuse in den Brutschrank oder nach Fütterung der Tiere konstant.

Das wesentliche Ergebnis ist auch hier, daß die bisherigen Untersuchungen über die Veränderung des Blutbildes infizierter Mäuse nicht unbedingt auf die Infektion zurückgeführt werden können, sondern ebenso durch den infolge der Infektion einsetzenden Hunger bzw. Temperaturabfall[2]) bedingt sein können.

Weiterhin wurde der Kot von normalen und Hungermäusen mit Hilfe der Benzidinreaktion unter allen Kautelen (s. Knorr und Gehlen, Arch. f. Hyg. Bd. 94. S. 136) auf Blutperoxydasen geprüft. Es zeigte sich, daß Hungermäuse schon nach 24stünd. Hungern im Kot Stoffe haben können, die die Benzidinreaktion geben. Man kann also auch keinen Schluß aus der positiven Benzidinreaktion des Kotes auf den Ablauf einer Infektion im Darm ziehen.

---

1) Klieneberger und Carl (Zentralbl. f. innere Med. Jahrg. 31. Nr. 34. S. 605) haben „eindeutige Unterschiede zwischen dem Blut der Maus und der Ratte im Hungerzustande gegenüber dem Blut im Stadium der Sättigung nicht feststellen können". Die Tiere wurden nur 12 Std. ohne Futter gehalten!

2) Wir haben noch nicht untersucht, ob sich das Blutbild bei Hungermäusen ohne starken Temperaturabfall auch ändert. Eine Beobachtung spricht dagegen.

Zusammenfassung.

1) Die weiße Maus als Versuchstier kann die Quelle vieler Fehler sein, falls die Tiere z. B. nach Infektionen, Einverleibung von Giften, Reiz- oder Proteinkörpern keine Nahrung mehr zu sich nehmen. Es können dann a) das Fallen und der Wiederanstieg der Körpertemperatur, b) die Verzögerung und das Ausbleiben des Tetanus, c) Veränderungen im Blutbild und der Nachweis von Blut im Kot nicht mit Sicherheit auf die Vorbehandlung zurückgeführt werden. Alle diese Erscheinungen treten auch bei normalen gesunden Mäusen auf, die nichts fressen.

Diese Feststellungen sind ferner wichtig für alle Versuche, wo Mäuse ohne Nahrung phys. und chem. Schädigungen oft stundenlang ausgesetzt werden. Die rasche und bedeutende Veränderung des Kreislaufes und des Stoffwechsels können die Ergebnisse stark beeinflussen. Die individuellen Verschiedenheiten bei Nahrungsentzug verursachen weitere Schwierigkeiten bei der Beurteilung eines Versuchsergebnisses.

2) Die weiße Maus ist aber als Hungertier ein ausgezeichnetes Versuchstier. Bisher wurde die „poikilotherme" Maus verwendet zu Versuchen a) über die Wirkung von Protein- und Reizkörpern, b) über Körpertemperatur und Nahrungszufuhr c) über den Ablauf des Tetanus.

3) Die Körperwärme normaler weißer Mäuse wird am zweckmäßigsten im Körperinnern 25 mm tief vom After gemessen. Sie erwies sich bei Dauermessungen nicht konstant. Aus zahlreichen Messungen ergibt sich, daß Temperaturen von 35,0—39,0° etwa 30 Sek. nach Einführung des Thermometers als Normalwerte angesprochen werden können. Aus je 100 Messungen ergab sich eine durchschnittliche Morgentemperatur von 37,7° und eine durchschnittliche Abendtemperatur von 37,6°. Die Temperatur ist nicht abhängig von Gewicht, Geschlecht und Schwangerschaft.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5516

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 99 enthaltenen Arbeiten.

II. Sachverzeichnis.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

